

---

ANNALES  
DE  
L'INSTITUT PASTEUR

---

Le Kala Azar infantile.

PAR M. CHARLES NICOLLE

Directeur de l'Institut Pasteur de Tunis.  
(Avec les pl. XIV et XV)

---

Les recherches dont nous exposons aujourd'hui les résultats ont été commencées en septembre 1907 à l'Institut Pasteur de Tunis. Nous avons attendu, avant de faire paraître un mémoire d'ensemble sur cette maladie nouvelle, qu'une notable partie des points à élucider aient reçu une solution satisfaisante.

Nous ne croyons plus devoir retarder aujourd'hui cette publication. On y trouvera, réunies à quelques faits nouveaux, les données établies par nous dans nos communications préliminaires à l'*Académie des Sciences*, l'*Académie de Médecine* et la *Société de Pathologie exotique* et que nous avons plus longuement exposées dans les *Archives de l'Institut Pasteur* de Tunis qui constituent comme le journal de nos expériences. Nous renvoyons à ces articles pour tous les détails qu'il nous paraît oiseux de répéter dans un mémoire d'ensemble.

On trouvera à la fin de ce travail la liste de nos publications antérieures.

Nous avons eu la bonne fortune d'être secondé dans nos recherches par le docteur C. Comte, chef de laboratoire à l'Institut Pasteur de Tunis, et par le docteur L. Manceaux, médecin-major au 4<sup>e</sup> zouaves à Tunis. A ces deux excellents collaborateurs, nous adressons nos remerciements.

Nous devons également de l'obligation à nos confrères du corps médical tunisien qui nous ont procuré les matériaux de travail sans lesquels nos recherches n'auraient pu être entreprises. Nous mentionnons, en premier lieu, notre ami le docteur Cassuto, auquel nous sommes redevables de la connaissance de

notre premier cas et qui a eu le grand mérite clinique d'en diagnostiquer ultérieurement un autre sur un enfant vu par lui après décès.

Nous citerons ensuite dans l'ordre chronologique des observations qu'ils nous ont apportées : MM. les docteurs Naamé, Cortesi, Porot, Domela et Calamida.

### Le Kala Azar indou.

Sous le nom de Kala Azar (splénomégalie tropicale, fièvre dum-dum, etc.), les médecins anglais des Indes ont fait connaître, il y a quelques années, une infection spéciale, distincte du paludisme avec lequel elle est souvent confondue, et caractérisée par les symptômes suivants : fièvre irrégulière, anémie progressive, amaigrissement extrême, troubles digestifs, hypertrophie considérable de la rate, hypertrophie moindre du foie, œdèmes transitoires. On peut noter également, mais d'une façon moins constante, des hémorrhagies par diverses voies, une éruption pétéchiale, la coloration bronzée de la peau (d'où le nom de la maladie : Kala Azar, fièvre noire), des douleurs rhumatoïdes. La quinine et les sels sont sans action sur la température. La terminaison presque fatale est la mort (1). L'agent pathogène de cette infection a été découvert par Leishman (2) en 1903, et retrouvé la même année par Donovan (3). Les préparations de cet auteur ont servi à MM. Laveran et Mesnil (4) pour leur étude du parasite, auquel ils avaient primitivement donné le nom de *Piroplasma donovani*.

Il a été depuis reconnu que ce protozaire ne présentait que des analogies avec les piroplasmes et un genre nouveau, le genre *Leishmania* a été créé pour lui. L'agent du Kala Azar indou a donc pris le nom de *Leishmania donovani*. Depuis cette époque, les travaux les plus importants ont été publiés par Christophers, Rogers, qui le premier a obtenu des cultures du microbe en sang

(1) Pour une connaissance plus complète du Kala Azar indou, consulter le traité de P. MANSON, *Tropical diseases*, 1904, p. 271; et les articles parus depuis quelques années dans la presse anglaise, en particulier dans le *Brit. med. Journ.* 1903, n° 2213, 2219; 1904, n° 2281, et le *Lancet*. La presque totalité des travaux publiés sur le Kala Azar a été résumée de la façon la plus claire et la plus instructive par M. F. MESNIL dans le *Bulletin de l'Institut Pasteur*.

(2) LEISHMAN, *Brit. med. Journ.* 1903, 30 mai, n° 2231, p. 1252-54.

(3) DONOVAN, *Brit. med. Journ.*, 1903, 11 juillet, n° 2219, p. 79.

(4) LAVERAN et MESNIL, *Acad. med.* 1903, 3 novembre, *Acad. sciences* 1903, 7 décembre; 1904, 25 janvier.



citraté. Patton, qui pense avoir suivi l'évolution du parasite chez une punaise, etc. Les corps de Leishman se rencontrent dans la rate, le foie, la moelle osseuse, les ganglions. Ils sont inclus dans de grandes cellules mononucléaires qui en contiennent souvent une quantité prodigieuse; ces cellules appartiennent surtout à l'endothélium des vaisseaux. Les parasites sont arrondis ou ovalaires; leurs dimensions, dans ce dernier cas, varient de  $2\ \mu$  5 sur  $1\ \mu$  5. Dans un protoplasma dépourvu de pigment, ils présentent deux corps chromatiques : le noyau, rond ou ovale, et le centrosome punctiforme ou en bâtonnet; ce dernier fixant très fortement la couleur.

L'analogie de ces protozoaires avec les parasites découverts par Wright dans le bouton d'Orient est extrême; les cellules qui les contiennent offrent des caractères identiques.

Le diagnostic de la maladie n'a pu être établi dans les premiers cas que par la ponction de la rate; il semble aujourd'hui, en raison des dangers que peut présenter cette opération, que les médecins anglais des Indes lui préfèrent la ponction du foie ou même, quoi qu'elle soit infidèle, la recherche dans le sang périphérique.

Le Kala Azar, assez fréquent dans le Bengale et dans l'Assam, a été observé dans quelques autres contrées : Ceylan, Chine, Philippines, Égypte, Arabie et même récemment en Crète (1).

Dans ces divers pays, la maladie ne semble présenter aucune prédilection pour les enfants en bas âge; les quatre cas égyptiens dont on connaît l'observation concernent trois adultes et un garçon de quatorze ans. Le cas récent, découvert en Crète, est celui d'un soldat.

### Historique du Kala Azar infantile en Tunisie.

En 1904, notre ami, M. Cathoire, médecin-major à la Goulette, examinant les frottis de rate recueillis à l'autopsie d'un enfant français de neuf mois, atteint d'une affection mal définie et qu'il n'avait pu suivre, y trouva des corps dont la structure lui sembla particulière. M. Laveran, auquel il adressa ses préparations, reconnut dans ces corps les parasites que Leishman et Donovan venaient de découvrir dans le Kala Azar (2).

Depuis cette époque, jusqu'en septembre 1907, nous avons

(1) G. J. S. ARCHER, *Journ. Roy. Army med. corps*, sept.-novembre 1907.

(2) *Académie de Médecine*, 1904, 22 mars, p. 247-248.

recherché systématiquement en vain des cas analogues. Toutes les fois que, sur un malade cachectique européen ou indigène, soumis à notre examen, une hypertrophie notable de la rate ne coïncidait pas avec la présence d'hématozoaires dans le sang, la ponction de l'organe était pratiquée et le produit examiné au microscope. M. Cathoire, de son côté, s'était livré à des recherches analogues. Dans tous les cas (30 ou 40 au total), la recherche du piroplasma fut négative; par contre, l'hématozoaire de Laveran, invisible dans le sang, était presque toujours présent dans la rate.

Nos examens avaient porté presque exclusivement sur des adultes, ce qui donne la raison de nos échecs.

Devant la constance de ces résultats négatifs, nous en étions arrivés, pour expliquer le cas de M. Cathoire, à envisager l'hypothèse du transport du germe par un officier français venu directement de l'Inde à la Goulette au moment où l'enfant commençait à être malade. Les dates cependant ne concordaient pas d'une façon absolument satisfaisante, et bientôt la découverte de cas de Kala Azar en Égypte et en Crète venait rendre au contraire probable l'existence autochtone de cette affection dans l'Afrique Mineure.

Ce n'était cependant là qu'une apparence, car, nous le verrons. L'infection observée par nous en Tunisie diffère de la maladie indoue par une donnée capitale, *l'âge de nos malades* qui sont tous des enfants jeunes, le plus souvent même en bas âge.

En nous permettant, au mois de septembre 1907, d'examiner avec lui un enfant français atteint d'anémie grave et fébrile avec hypertrophie de la rate, M. Cassuto nous fournit l'occasion que nous cherchions de commencer l'étude de la maladie. Presque toutes nos recherches expérimentales ont été pratiquées avec le virus de notre premier malade.

Nous avons pu, depuis cette date, observer, dans le délai d'une année environ, huit autres cas de Kala Azar diagnostiqués par la ponction de la rate. Avec l'observation antérieure de Cathoire et un autre cas dans lequel la recherche de l'agent spécifique n'a pu être faite, mais qui n'offre cliniquement aucun doute, cela fait aujourd'hui onze cas certains de Kala Azar infantile observés en Tunisie (1).

1. Au moment où nous corrigeons ces épreuves (avril 1909), un nouveau cas vient de nous être adressé par le docteur Calamida : Cas 12, avec confirmation microscopique.



Le nombre de ces cas, quoique encore limité, n'en est pas moins suffisant pour nous permettre de tracer de cette maladie nouvelle un tableau clinique. Toutes nos observations sont d'ailleurs presque exactement superposables.

Dans l'étude qui va suivre, nous désignerons les divers cas tunisiens en employant la même numération que dans nos publications antérieures. Cette numération suit l'ordre chronologique des cas, à deux exceptions près, sur lesquelles nous désirons nous expliquer :

1<sup>o</sup> L'observation de Cathoire porte le numéro 3, quoi qu'elle soit la plus ancienne en date, parce que nous lui avons donné ce chiffre dans notre premier travail;

2<sup>o</sup> La seconde observation de Calamida est désignée sous le numéro 11, alors que par sa date elle devrait venir la sixième. Nous lui avons assigné la dernière place parce que, dans ce cas, le seul de la série, le diagnostic clinique indiscutable de Kala-Azar n'a pu être confirmé par l'examen microscopique.

Voici la liste de nos observations avec leurs numéros d'ordre et le nom des médecins qui nous ont fourni l'occasion de les étudier avec eux.

- I. — Cassuto (avec autopsie).
- II. — Naamé.
- III. — Cathoire (cas antérieur à nos recherches).
- IV. — Conseil.
- V. — Cassuto (reconstitué *post-mortem* par ponction de la rate du cadavre).
- VI. — Cortesi.
- VII. — Cortesi.
- VIII. — Porot (avec autopsie).
- IX. — Domela.
- X. — Calamida.
- XI. — Calamida (pas de confirmation microscopique).

### Esquisse clinique du Kala Azar infantile.

AGE. — SEXE. — NATIONALITÉ. — Il s'agit dans tous les cas, ainsi que nous l'avons dit, et c'est là jusqu'à présent un caractère constant et propre à la maladie, d'enfants jeunes, généralement même d'enfants en bas âge.

Au moment où l'infection a débuté chez nos malades, ils

comptaient respectivement (en suivant l'ordre des observations), 20 mois, 18 mois, 5 mois, 3 ans, 4 ans, 2 ans, 18 mois, 26 mois, 18 mois, 6 ans (1), 8 mois. Ces chiffres ne sont qu'approximatifs, ils doivent tous être considérés comme trop élevés, car nul symptôme bien évident ne prévient les parents ou le médecin du début exact de la maladie. On est donc actuellement en droit de dire que le Kala Azar infantile peut débiter dès les premiers mois de la vie et qu'on ne doit guère s'attendre à le voir paraître après 3 à 4 ans. Il semble que ce soit surtout pendant la seconde année (entre 1 et 2 ans) qu'il fasse, en général, son apparition.

Sept des enfants appartenaient au sexe masculin, les quatre autres étaient des filles.

Au point de vue de la nationalité, nous comptons trois enfants français, quatre italiens, deux nés de mariage entre français et italiennes, un maltais, un indigène. Des diverses races qui peuplent la Tunisie, la race israélite est la seule qui ne nous a donné jusqu'à présent aucun cas.

Tous ces enfants sans exception étaient nés dans la Régence.

LOCALITÉ OU A DÉBUTÉ L'INFECTION. — Nous avons cherché à déterminer pour chaque cas dans quelle localité se trouvait l'enfant au début de son infection. A une exception près, ce renseignement a pu être établi d'une façon certaine.

Voici les résultats obtenus :

Tunis : 5 cas (dont un douteux, peut-être contracté à Saint-Cyprien, 25 kilomètres ouest de Tunis.)

La Goulette : 1 cas.

Halouane (2) : 1 cas.

Bir M'cherga (3) : 1 cas.

Oued Zargua (4) : 1 cas.

Ferryville : (5) : 1 cas.

Porto-Farina (6) : 1 cas.

Tous ces cas appartiennent à la région septentrionale de la

(1) Le père de cet enfant a affirmé que le malade présentait déjà une pâleur très accentuée 4 ans avant l'apparition des autres symptômes. Si ce renseignement est exact, l'âge du malade au début de l'infection aurait été de 2 ans et non de 6.

(2) 25 kilomètres au sud de Tunis, direction de Zaghuan.

(3) 30 kilomètres au sud de Tunis, même direction.

(4) 70 kilomètres à l'ouest de Tunis, ligne d'Algérie.

(5) 50 kilomètres au nord de Tunis, ligne de Bizerte.

(6) 40 kilomètres au nord de Tunis.

Toutes ces indications représentent la distance à vol d'oiseau.

Le 12<sup>e</sup> cas auquel nous avons fait allusion dans une note précédente, concerne un enfant de 2 ans et qui est du sexe masculin, italien, atteint depuis 1 an, habitant et ayant toujours habité à Bir M'cherga. C'est le 2<sup>e</sup> cas constaté dans cette localité.



Tunisie (Contrôles de Tunis et Bizerte). Nous n'avons pas eu l'occasion d'examiner d'enfants appartenant à d'autres parties de la Régence. Nous devons faire remarquer cependant que, lors d'un séjour que nous avons fait à Djerba au printemps 1907, nous nous souvenons avoir examiné un enfant indigène atteint d'anémie avec fièvre et grosse rate, non paludéen, que nous serions rétrospectivement porté à considérer comme ayant été atteint de Kala Azar.

SYMPTOMATOLOGIE. — La symptomatologie du Kala Azar infantile paraît sensiblement identique à celle du Kala Azar indou. Seul, l'âge des malades diffère.

DÉBUT. — Le début de l'infection est insidieux et ne peut jamais être précisé d'une façon parfaitement exacte. Les premiers symptômes observés sont mis généralement sur le compte d'un accident ou d'une affection banale : évolution dentaire, troubles digestifs, troubles de croissance, etc.

Ces symptômes sont une *anémie progressive* accompagnée de *poussées fébriles irrégulières* et de *troubles gastro-intestinaux*. L'enfant maigrit, devient moins gai, cesse de s'intéresser à ce qui l'entoure, refuse de jouer (s'il s'agit de tout jeunes enfants, les parents ne manquent pas de faire remarquer qu'ils n'ont jamais joué) et semble craindre tout effort. L'appétit est généralement conservé sauf, et non d'une manière constante, au moment des crises digestives. Celles-ci consistent en des périodes de diarrhée souvent fétide, alternant avec des périodes de constipation ; le ventre est parfois ballonné, mais ce ballonnement cesse dès que les symptômes digestifs s'amendent.

La *pâleur* est un signe précoce ; nous verrons plus loin son importance capitale pour le diagnostic clinique de la maladie.

La fièvre semble irrégulière, procédant par poussées dont la durée n'excède pas quelques jours et que suivent des périodes apyrétiques où tout semble rentrer dans l'ordre. Il est exceptionnel que la température ait été prise d'une façon régulière à cette époque. La plupart des enfants qui font l'objet de nos observations n'ont été vus alors qu'à de rares intervalles ; généralement même, ils ont échappé jusqu'à la période d'état à tout examen médical.

ÉTAT. — Lorsqu'il nous a été donné d'observer personnellement les malades, ils présentaient un tableau clinique toujours

très net et sensiblement le même. Tantôt, ils nous étaient adressés par le médecin traitant dès les premiers jours de son examen, son attention, mise en éveil par nos publications antérieures, ayant été attirée par les symptômes capitaux de la maladie : pâleur, amaigrissement, œdèmes, fièvre, hypertrophie de la rate; tantôt, et ce fut le cas pour les premiers malades, parce que la fièvre mise sur le compte du paludisme ne cédait pas à la quinine. *L'absence d'action de la quinine chez un enfant présentant une fièvre irrégulière et une grosse rate est un des symptômes caractéristiques du Kala Azar infantile.*

A l'examen, nous notons, comme premier signe, une *pâleur extrême*. La face de l'enfant est blanche comme un linge, d'une blancheur telle qu'on n'en voit de semblable que chez les gens ayant subi une forte perte de sang.

Ce n'est pas la pâleur terreuse du paludisme, c'est une teinte d'un blanc mat et transparent suffisamment typique pour que, dans un cas, nous ayons pu porter cliniquement le diagnostic de Kala Azar en nous basant sur elle. En dehors de la peau du visage, les téguments de tout le corps sont décolorés et les muqueuses, celles des conjonctives en particulier, absolument exsangues.

Cette pâleur s'accompagne d'un *amaigrissement profond*. La tête du malade est celle d'un athrepsique; ses traits donnent une impression de décrépitude enfantine. Le tronc est décharné, les côtes et les omoplates font saillie, les membres sont maigres, squelettiques.

Formant contraste avec cette maigreur générale, le *ventre* se montre *volumineux*, parfois tendu. A sa surface, les veines superficielles de l'abdomen dessinent un réseau plus ou moins apparent. Souvent l'hypochondre gauche paraît plus gros, plus plein que le droit. Il existe parfois un peu d'ascite.

On remarque fréquemment des *œdèmes* de la face, des mains et des pieds. Ces œdèmes sont *blancs, non douloureux, fugaces*. Ils ont un début subit, une durée quelquefois éphémère et disparaissent souvent aussi brusquement qu'ils sont venus. Malgré leur tendance à la symétrie, ils sont nettement influencés par l'attitude du malade, et prédominent du côté ou aux extrémités déclives.

A la face, ils siègent surtout aux paupières, lesquelles par



leur bouffissure donnent à l'enfant l'aspect d'un brightique ou d'un coquelucheux. En dehors des mains, les poignets, les avant-bras, les bras sont souvent atteints. Aux membres inférieurs, l'œdème des jambes et des cuisses accompagne souvent l'enflure des pieds. Il est fréquent d'observer un gonflement œdémateux des organes génitaux externes. A partir d'un certain degré d'infection, ces œdèmes peuvent devenir définitifs.

L'attention du médecin est parfois attirée par les parents même de l'enfant du côté de la rate. Dans les pays, comme la Tunisie, où le paludisme est endémique, on connaît jusque dans les milieux indigènes l'importance de l'hypertrophie splénique et on sait la rechercher. Souvent cette hypertrophie est telle qu'on voit se dessiner l'organe sous forme de tumeur volumineuse occupant l'hypochondre gauche et descendant plus ou moins bas dans les régions sous ombilicales.

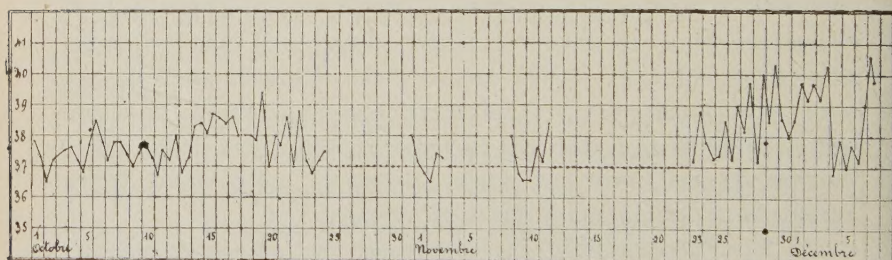
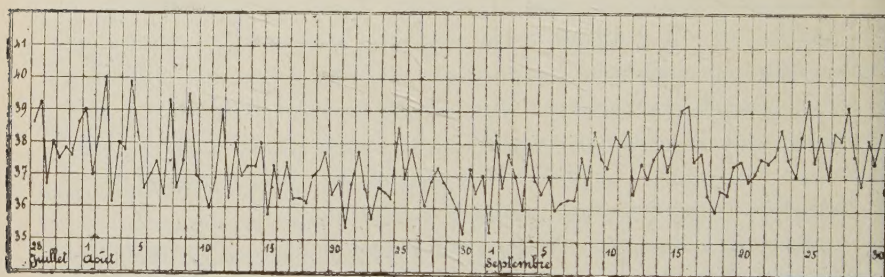
La palpation permet de se rendre un compte exact de cette hypertrophie. *La rate est généralement énorme*, mesurant jusqu'à 15 à 20 centimètres de haut pour une largeur sensiblement moindre. L'organe, occupant en partie la cavité abdominale et dépassant dans tous les cas le rebord costal, peut être facilement pris entre les mains. Parfois même, il est mobile et abaissé et on peut, par la palpation, en faire entièrement le tour. On reconnaît sans peine sa forme, ses encoches si fréquentes, le caractère mousse de ses bords, sa surface lisse, sa consistance ferme. Jamais la pression n'en paraît douloureuse.

*Le foie s'hypertrophie plus tardivement* et à un degré moindre que la rate. Il est de règle, à partir d'une certaine époque, qu'il dépasse d'un à deux ou trois travers de doigt le rebord costal.

Les ganglions des aines, des aisselles, du cou sont souvent gros; mais leur hypertrophie est un phénomène banal qui n'a rien à voir avec le Kala Azar.

L'examen des autres organes ne décèle ordinairement aucun symptôme important. A l'auscultation des poumons, on perçoit souvent des râles de bronchite généralisée ou limitée aux bronches de gros et de moyen volume. On observe quelquefois une toux sèche, quinteuse, plus ou moins persistante. Souvent il semble qu'il existe une dyspnée à l'effort. Le cœur est normal, seuls les battements en sont précipités, leur nombre étant en rapport à la fois avec le degré d'anémie et la fièvre.

*Celle-ci offre une allure absolument irrégulière.* Elle procède d'abord par poussées durant une, deux semaines ou davantage et alternant avec des périodes d'apyrexie pour finalement s'établir d'une façon continue sans cesser d'ailleurs de conserver son irrégularité. Au début la température dépasse rarement  $38^{\circ},5$  ou  $39^{\circ}$ ; plus tard elle peut atteindre  $40^{\circ}$  ou même un peu plus. Les deux courbes ci-jointes donnent idée de la marche de la température chez les malades.

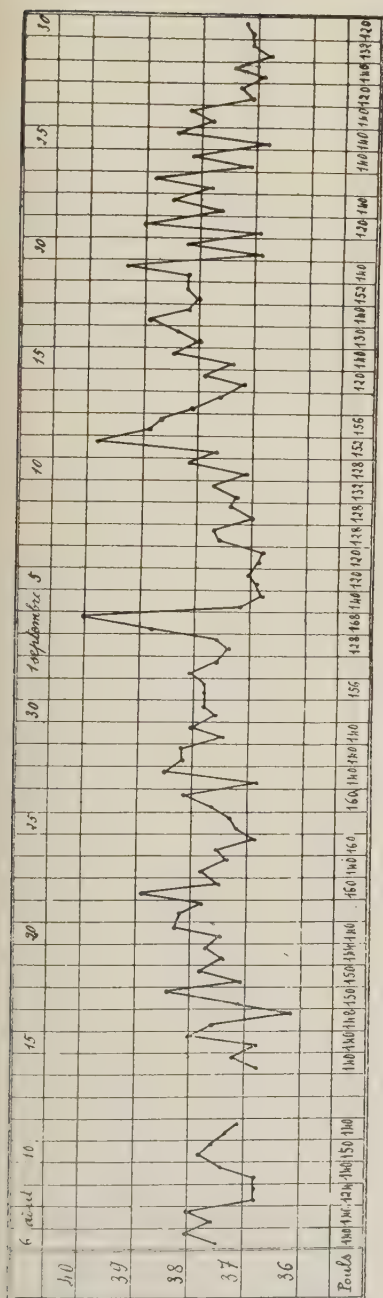


Courbe de l'enfant I.

Pendant les périodes fébriles on voit souvent, dans une même journée, se succéder plusieurs accès, coupés par des périodes d'apyrexie relative ou totale. Il y a donc, dans ces cas, *plusieurs maxima par jour*. A titre documentaire, nous citerons ici le tableau de la température du malade de l'observation X, prise à plusieurs reprises pendant une période de 24 heures :

1 heure du soir	$38^{\circ},1$	11 heures du soir	$40^{\circ},1$
3 heures du soir	$37^{\circ},1$	3 heures du matin	$37^{\circ},1$
5 — —	$40$	5 — —	$37^{\circ},1$
7 — —	$38^{\circ},1$	9 — —	$38^{\circ},1$
9 — —	$37^{\circ},1$	11 — —	$40^{\circ}$





Courbe de l'enfant VI.

Ces accès fébriles peuvent être précédés de frissons ; souvent on note des sueurs dans les périodes apyrétiques intercalaires. Il existe fréquemment une réaction sudorale à l'effort.

Dans les derniers jours de la maladie, s'il ne survient aucune complication qui influence la température, l'enfant, du fait de l'affaiblissement progressif, peut succomber dans l'hypothermie. Celle-ci se rencontre parfois passagèrement dans l'intervalle des périodes fébriles ou à la suite d'hémorragies.

*Le pouls est toujours rapide,* même dans les périodes apyrétiques, où la discordance de la température et du pouls est de règle; il s'exagère au moment des poussées fébriles et peut atteindre jusqu'à 150 et 160.

Pâleur, anémie, amaigrissement, œdèmes fugaces, hypertrophie extrême de la rate, hypertrophie moindre du foie, fièvre irrégulière, fréquence du pouls, sont les symptômes que l'on rencontre constamment dans les cas de Kala Azar à la période d'état.

Les *troubles digestifs* ne manquent pas non plus. Comme au début, ils procèdent par crises irrégulières, se caractérisant par des débâcles et des périodes de diarrhée souvent fétide, alternant avec des journées de constipation.

L'appétit, même pendant ces périodes, est généralement peu touché; il est souvent au contraire remarquablement conservé et parfois même augmenté.

L'enfant, dans l'intervalle des accès fébriles, demeure inerte, il refuse de marcher, de se tenir debout, il suit des yeux les personnes de son entourage, ne rit jamais et ne témoigne de son existence que par ses cris lorsqu'il pense qu'on va l'examiner. Il réclame souvent avec énergie ses repas. Nous n'avons jamais rien noté du côté des urines.

SYMPTÔMES INCONSTANTS. — En dehors des signes que nous venons de décrire et qui ne manquent jamais dans le Kala Azar infantile à la période d'état, on peut constater d'autres symptômes dont la fréquence nous a paru variable.

Les plus importants de ces symptômes consistent en *hémorrhagies*. Elles sont de règle dans le Kala Azar indou. Nous les avons rencontrées chez 5 seulement de nos malades. Elles ont des sièges divers. L'accident le plus fréquent de ce genre est une *gingivite hémorrhagique* à répétitions, elle a été rencontrée chez 3 enfants (III, IV, V). Des *épistaxis* légères ont été notées dans deux cas (III, V); elles se sont répétées à plusieurs reprises chez ces deux malades (1). Deux autres ont présenté une *éruption purpurique* discrète (I, III), formée de petits éléments siégeant surtout sur la région des aines et d'une durée de quelques jours seulement. L'enfant III a eu probablement des hémorrhagies intestinales (*mælena*).

Un accident plus fréquent et de même ordre est l'*hémophilie*; la plus petite plaie chez ces malades pouvant devenir le point de départ d'hémorrhagies souvent importantes (obs. IV, V, VI). Cette complication gêne parfois le traitement, car les inoculations médicamenteuses sous-cutanées et surtout intra-veineuses peuvent se compliquer de la production d'hématômes (en particulier, obs. VI). Chez l'enfant IV, une petite ulcération spontanée du bord libre de la paupière inférieure de l'œil droit, consécutive à un orgeolet, a donné lieu à une grave hémorrhagie qui a contribué par son abondance à hâter la mort du malade.

En dehors des œdèmes indolores et fugaces de la face et des membres, nous avons remarqué, chez notre premier malade, une poussée inflammatoire du côté des articulations des genoux

1. Nous les avons notées également dans le cas 12, inédit.



et des poignets; cette poussée, analogue à une crise de rhumatisme aigu, consistait en un gonflement périarticulaire, très douloureux avec rougeur, chaleur locale et impotence fonctionnelle. La durée de ces accidents a été de cinq jours.

Le même malade a encore présenté, vers la fin de sa maladie, des œdèmes de type un peu spécial, en bracelets, siégeant sur un segment de membre (avant-bras, jambes) et douloureux.

Dans deux cas, nous avons observé des *éruptions bulbeuses* : Obs. I. gros éléments localisés au visage et aux membres inférieurs, remplis d'un liquide clair et se montrant sous forme de poussées successives accompagnées chacune d'un accès fébrile. Un peu plus tard, apparition d'une bulle unique au genou. Obs. VI, bulle unique du diamètre de 5 millimètres remplie d'une sérosité rosée et siégeant également au genou. Cet élément est entouré d'une zone rouge vif de deux centimètres environ de diamètre; le toucher en est très douloureux; guérison en trois ou quatre jours.

Enfin, il est des accidents particulièrement graves, dont l'apparition peut amener brusquement la mort au milieu d'un état général relativement satisfaisant. Ce sont des *accès de dyspnée subite*. Nous les avons notés chez deux malades (obs. I et V). Chez le premier, ils se sont montrés à deux reprises dans les dernières heures de la vie, sans que rien ait pu faire prévoir qu'une catastrophe était imminente; le premier accès s'est accompagné d'un frisson, d'angoisse violente et d'anurie, il a cédé à une révulsion générale; le second, qui a enlevé en quelques minutes l'enfant, a consisté en une crise subite de suffocation avec angoisse extrême, agitation et sueurs froides, sans perte de connaissance.

La seconde malade (obs. V) était très anémiée par suite d'une hémorrhagie consécutive à une plaie insignifiante du cuir chevelu, lorsque s'est montré chez elle un œdème intense de la moitié gauche de la face. Quelques heures après l'apparition de cet œdème, l'enfant fut prise de toux, puis d'un accès subit de suffocation qui l'enleva en pleine connaissance. Ces accidents nous paraissent reconnaître comme cause un œdème de la glotte, analogue à ces autres œdèmes du visage ou des membres, brusques dans leur apparition, qui sont si caractéristiques du Kala

Azar et que nous avons décrits plus haut. Leur siège ici fait leur gravité (1).

DURÉE. — TERMINAISON. — La durée du Kala Azar infantile paraît toujours très longue. La maladie se prolonge pendant des mois, peut-être des années. Nous croyons qu'elle peut présenter des *rémissions*.

Le malade de l'obs. X en serait un exemple, si la pâleur prématurée observée par le père quatre ans avant l'apparition des autres symptômes n'a pas été une illusion. Dans ce cas, les accès très nets de coqueluche qui ont accompagné le début apparent de l'infection ont peut-être simplement réveillé une infection en train de s'éteindre.

Nous pensons en effet que le Kala Azar infantile est susceptible de *guérison spontanée* : sur onze malades observés par nous, neuf sont morts et les deux autres présentent à l'heure actuelle encore un état grave; l'un d'eux, au moins, nous paraît destiné à mourir (2). Nous ne croyons pas cependant que la maladie soit fatalement mortelle. Deux raisons nous font penser qu'elle peut guérir dans certains cas.

La première est le caractère infantile de l'infection. Il est évident que l'homme adulte, l'adolescent, l'enfant d'un certain âge, sont aussi exposés à la contagion, laquelle nous le verrons plus loin se fait par le chien, que l'enfant en bas âge. Si aucun cas n'a été observé jusqu'à présent sur des enfants atteints de plus de six ans, c'est qu'à partir d'un certain âge, l'organisme humain lutte victorieusement contre le parasite. Cette lutte ne se traduit sans doute chez l'adulte par aucun symptôme, mais il est inadmissible qu'entre l'enfant en bas âge qui présente une maladie aussi grave que celle que nous venons de décrire et l'adolescent qui, exposé comme lui, ne réagit nullement, il n'existe pas de cas intermédiaires où la maladie se traduise par un tableau clinique analogue, d'autant plus net que l'individu atteint est moins âgé et que, dans ces cas intermédiaires, le Kala Azar ne puisse guérir après avoir été reconnu cliniquement. Si cette donnée est exacte, le Kala Azar serait, d'une façon générale, d'autant plus grave que l'enfant est plus jeune. Plusieurs de nos

1. L'enfant 10 qui a succombé depuis la rédaction est mort lui aussi à la suite d'accès de suffocation.

2. Au moment où nous corrigeons les épreuves de cet article, l'enfant 10 est mort (30 janvier) et l'enfant 9 a été perdu de vue.



observations, même parmi celles qui se sont terminées par la mort, semblent l'indiquer.

La seconde raison que nous avons de croire à la possibilité de la guérison spontanée dans le Kala Azar infantile, est l'observation que nous avons fait de trois enfants chez lesquels le tableau clinique du Kala Azar a pu être ou partiellement retrouvé ou entièrement reconstitué, tandis que la ponction de la rate pratiquée dans de bonnes conditions a donné un résultat négatif. Deux de ces enfants ont été vus personnellement par nous peu de temps après la cessation de leur fièvre; ils présentaient encore une pâleur caractéristique, de l'amaigrissement, le ventre gros, une rate très hypertrophiée et un foie dont le volume était augmenté. La fièvre, les œdèmes manquaient, mais avaient existé et revêtu les caractères qu'ils ont habituellement dans le Kala Azar infantile. La quinine s'était montrée sans action sur la température pendant la période fébrile.

L'observation d'un de ces malades a été communiquée à la *Société des Sciences médicales de Tunis* par M. le docteur Porot. Cet enfant que nous avons eu l'occasion d'examiner à plusieurs reprises, dont une toute récente (décembre 1908), est aujourd'hui complètement guéri et son anémie disparue; la rate seule reste encore un peu grosse.

Le second malade a été examiné par nous plusieurs mois après la fin de la fièvre; son état général semblait assez bon, il présentait encore avec un certain degré d'anémie, une rate assez grosse, sans être énorme, et un foie qui dépassait légèrement les fausses côtes. Des œdèmes fugaces avaient été notés pendant les périodes fébriles et les médecins avaient remarqué alors l'absence d'action de la quinine sur la température. Deux ponctions de la rate ont été pratiquées sans résultat sur cet enfant, la première par notre collègue militaire, le docteur Sicre, la seconde, six mois plus tard, par nous.

Enfin, un troisième enfant, celui-ci âgé de neuf ans, a été récemment examiné par nous. Il présente une rate grosse et un léger degré d'anémie. En interrogeant ses parents qui appartiennent à l'élite des colons français des environs de Tunis, on établit nettement qu'il a souffert dès les premiers mois de sa vie d'une infection grave, caractérisée par de la fièvre, de l'anémie avec pâleur extrême, des œdèmes et une grosse rate; jamais

la quinine n'a eu d'action sur la température. Ce n'est que peu à peu que l'état général s'est amélioré; actuellement il est encore médiocre, l'enfant a besoin de ménagements, mais il paraît tout à fait hors d'affaire. Nous n'avons pas cru devoir, dans ces conditions, pratiquer une ponction de la rate qui aurait donné à coup sûr un résultat négatif.

Dans les huit cas mortels de Kala Azar infantile observés jusqu'à présent, la *mort* est survenue du fait des accidents suivants :

OBS. I. — Accès brusque de suffocation (œdème de la glotte.)

OBS. II. — Anémie progressive; suppurations multiples.

OBS. III. — Anémie progressive.

OBS. IV. — Anémie progressive, hémorrhagies, suppurations.

OBS. V. — Accès brusque de suffocation (œdème de la glotte.)

OBS. VI. — Anémie progressive.

OBS. VII. — Diphtérie laryngée compliquée de broncho-pneumonie.

OBS. VIII. — Anémie progressive.

L'enfant de l'obs. VII a été perdu de vue, les enfants IX et X sont encore vivants (1).

ESSAIS DE TRAITEMENT. — La plupart des enfants observés n'ont pu être l'objet d'un traitement rationnel; plusieurs ont été vus trop tardivement (chez un le diagnostic a été fait le jour de la mort, chez l'autre le lendemain); pour les autres, presque toujours, les parents n'ont pas permis un essai de traitement rationnel.

Exception doit être faite pour trois malades, ceux des observations I, IX et X. Les derniers étant encore vivants quoique non guéris, nous ne parlerons que du premier (2). L'atoxyl chez lui a paru donner quelques résultats et l'état général paraissait bon, lorsqu'un accès de suffocation subit est venu subitement l'enlever.

Il y a lieu d'essayer dans le Kala Azar infantile les diverses méthodes thérapeutiques employées pour le traitement des trypanosomiasés : atoxyl seul en séries bien réglées, association atoxyl-orpiment, l'émétique, la chromothérapie, etc. Quelle que soit la méthode employée, on devra ne pas négliger de soutenir les forces du malade par une bonne alimentation et la vie dans

(1) Nous avons dit dans une note précédente que l'enfant X était mort depuis la date de rédaction de cet article, à la suite d'accès de suffocation.

(2) Au moment où nous terminons cet article, nous apprenons que l'enfant IX (Dr Domela) est très manifestement amélioré (traitement par l'atoxyl).



MASSON ET C<sup>ie</sup>, ÉDITEURS  
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE  
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120 — PARIS (VI<sup>e</sup> ARR.)

PR. N° 609 

# TRAITÉ

des

# Maladies de l'Enfance

---

DEUXIÈME ÉDITION ENTIÈREMENT RÉFONDUE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

J. GRANCHER | J. COMBY

et HAWTHORN. — Aphasie, troubles du langage, par GUTZMANN. — Idiologie, imbecillité, débilité mentale, épilepsie, par CHASLIN et ROUSSEAU. — Spasme nutant, par THOMSON. — Psychoses de l'enfance, par COMBY. — Hystérie, par SAINT-PHILIPPE. — Terreurs nocturnes, par MOIZARD. — Chorée, par CH. LEROUX. — Maladie de Bergeron, chorée électrique, par BÉZY. — Convulsions, par P. SIMON. — Tétanie, par ESCHERICH. — Paralytie générale, tabes, maladie de Friedreich, par Mous-sous. — Maladie de Little, par P. SIMON. — Sclérose en plaques, syringomyélie, par COMBY. — Tumeurs de la moelle et des méninges-spinales, par P. SIMON. — Myélite transverse généralisée, maladie de Landry, par SOLTSMANN. — Amyotrophies chroniques progressives, paralytie infantile, par HAUSHALTER. — Polioencéphalites, Polynévrites, par AUSSET. — Hématomyélie, par J. HALLÉ. — Trophonévroses de la face, paralytie obstétricale des nouveau-nés, par COMBY. — Paralytie faciale, paralytie douloureuse, par BÉZY. — **Maladies du système musculaire :** Maladie de Thomsen, paramyoclonus multiplex, par CARRIÈRE. — Myosites aiguës, par MARTINEZ-VARGAS. — Myosite ossifiante, par DAVEL. — Tumeurs du muscle sterno-cléido-mastoïdien, par GONZALEZ-ALVAREZ. — **Maladies de la peau :** glandes sudoripares et sébacées, kératoses, verrues, molluscum contagiosum, par COMBY. — Dermites infantiles simples, par JACQUET. — Erythèmes infectieux et toxiques symptomatiques par MUSSY. — Erythèmes infectieux idiopathiques, herpès, eczéma, ostéo-arthropathie hypertrophiante pneumique, par COMBY. — Impétigo, ecthyma, par CH. LEROUX. — Absès multiples de la peau, par J. RENAULT. — Infections cutanées, par J. HULOT. — Gangrènes disséminées, par J. RENAULT. — Gangrène symétrique des extrémités, engelures, par BAUMEL. — Zona, par R. MILLON. — Tubercules cutanés, tuberculides, lichen, urticaire pigmentaire, sirophulus, prurigo, chronique, herpétique.



du nouveau-né, céphalématome, hémorragies des nouveau-nés, par L. DEMELIN. — Dermalite exfoliatrice des nouveau-nés, pemphigus, œdème et sclérome, éléphantiasis, hypertrophie congénitale, amputations congénitales, engorgement et abcès de la mamelle, par J. COMBY. — **Maladies des sens** : Maladies des yeux, par E. VALUÉ. — Maladies de l'oreille, par E.-J. MOURÉ. — **Maladies chirurgicales**, Bec-de-lièvre, macroglossie, tumeurs du plancher de la bouche, polypes nasopharyngiens, par A. BROCA. — Appendicite, par F. BRUN et V. VEAU. — Invagination intestinale, par A. JALAGUIER. — Prolapsus du rectum, par A. BROCA. — Polypes du rectum, polyadénomes de l'intestin, fissures à l'anus, par G. FÉLIZET et A. BRANCA. — Malformations ano-rectales, abcès péri-anaux et péri-rectaux, fistules ano-rectales, par E. FORGUE. — Corps étrangers des voies digestives, par G. FÉLIZET et A. BRANCA. — Hernies inguinales et ombilicales, par A. BROCA. — Kystes hydatiques, par D. CRANWELL et HERRERA VEGAS. — Kystes hydatiques du foie, par E. FORGUE. — Néoplasmes du rein, par J. ALBARRAN et L. INBERT. — Maladies des organes génito-urinaires externes dans le sexe masculin, par A. POUSSE. — Abcès intra-cranien, par A. BROCA. — Spina-bifida, déviations du squelette, par T. PIÉCHAUD. — Maladies des os et des articulations, par A. BROCA et DELANGLADE. — Tumeurs et fistules congénitales, par V. VEAU. — Brûlures, par DELANGLADE. — **Thérapeutique** : Notions générales de thérapeutique, par J. COMBY. — Electrothérapie, photothérapie, radiothérapie, par J. LARAT. — Gymnastique et rééducation respiratoires, par G. ROSENTHAL. — Rééducation psychique et psychothérapie, par P.-E. LÉVY. — Formulaire et posologie, par J. COMBY. — Table alphabétique des matières des 5 volumes. — 4 vol. gr. in-8 de 1.244 pages, avec figures dans le texte. . . . . 24 fr.

La première édition du *Traité des Maladies de l'Enfance* en cinq volumes a été rapidement épuisée; on peut prédire à la seconde un aussi vif succès. Ce n'est pas une simple réimpression; les modifications qui ont été faites à l'œuvre primitive sont importantes. Plus de cent articles nouveaux ont dû trouver place. D'autre part, certains chapitres ont été réduits, gagnant ainsi en vigueur et en netteté, de sorte qu'on a pu maintenir la division primitive en cinq volumes. Les directeurs ont eu le mérite, en outre, de s'élever au-dessus des questions étroites d'école ou de nationalité. Ils ont confié la rédaction de bon nombre d'articles à des médecins étrangers, de sorte qu'ils peuvent à bon droit présenter leur œuvre comme un exposé impartial de la pédiatrie contemporaine...

(*La Revue de Médecine.*)

Les bons livres vont vite, mais le succès du *Traité des Maladies de l'Enfance* est exceptionnel. Une publication en cinq volumes rapidement épuisée, cela ne se voit pas tous les jours... Le lecteur de cet ouvrage



des conditions parfaites d'hygiène. La terminaison par guérison spontanée, que nous croyons possible, doit encourager tous les essais de traitement.

**HÉMATOLOGIE. — LÉSIONS SANGUINES.** — Nous avons déjà signalé la tendance aux hémorrhagies. Le sang des malades de Kala Azar infantile est généralement pâle, quelquefois presque aqueux; il se coagule lentement et mal.

N'ayant eu l'occasion de voir la plupart des enfants qu'une seule fois, il ne nous a été possible de pratiquer chez eux qu'un nombre très limité de recherches. Les parents, en général non français, se sont opposés presque toujours aux prélèvements que nous voulions faire. Chez le plus grand nombre de nos malades, nous avons dû nous contenter de la ponction de la rate, trop heureux qu'elle ne nous ait pas été refusée. Ces difficultés expliquent pourquoi ce chapitre de nos recherches, à l'inverse des autres, demeure fort incomplet. Il y aura là une étude à reprendre dans la suite, lorsque les occasions favorables se présenteront. Cette partie de l'étude du Kala Azar est heureusement d'importance secondaire.

**DOSAGE DE L'HÉMOGLOBINE**, pratiqué seulement chez deux des malades.

OBS. VI. — Moins de 4 (Hématoscope de Hénocque).

OBS. VII. — 10.

**NUMÉRATION DES GLOBULES ROUGES ET BLANCS**, chez les mêmes malades;

OBS. VI. — Globules rouges : 1,767,000; globules blancs : 2,325.

OBS. VII. — 3,286,000 et 1,550.

**FORMULE LEUCOCYTAIRE**, recherchée chez sept malades;

OBS. I. — Trois examens :

1<sup>er</sup> examen : mononucléaires 68 (grands mono et formes de transition 40); lymphocytes, 28; polynucléaires, 32. Absence d'éosinophiles.

2<sup>e</sup> examen : mononucléaires 74 (41 et 33); polynucléaires 26. Absence d'éosinophiles.

3<sup>e</sup> examen : mononucléaires, 68 (36 et 32); polynucléaires, 32. Absence d'éosinophiles.

OBS. II. — Un examen : mononucléaires, 75 (44 et 31); polynucléaires, 25. Absence d'éosinophiles.

OBS. IV. — Un examen : mononucléaires, 55 (dont 3 seulement de grandes formes); polynucléaires, 45. Absence d'éosinophiles. Le nombre, relativement

plus élevé dans ce cas, des polynucléaires tient vraisemblablement aux supurations multiples que présentait l'enfant au moment de l'examen.

OBS. VI. — Un examen : mononucléaires, 56 (prédominance des formes de transition); polynucléaires, 43. Éosinophiles, 1.

OBS. VII. — Un examen : mononucléaires, 69 (grands, 5; formes de transition, 39,5); lymphocytes 24,5; polynucléaires, 2. Absence d'éosinophiles.

OBS. IX. — Le sang ayant été mal étalé, aucune numération exacte n'a pu être pratiquée, il y avait cependant manifestement prédominance de mononucléaires.

OBS. XI. — Mononucléaires, 74 (grands, 11, lymphocytes et formes de transition, 63); polyn., 33; éosinophiles, 4.

#### ÉLÉMENTS ANORMAUX

OBS. I. — Pas d'hématies nucléées lors des trois examens.

OBS. II, IV et IX. — *Id.*

OBS. VI et VII. — Une hématie nucléée pour 200 globules blancs environ.

OBS. XI. — Nombreuses hématies nucléées.

En résumé : anémie globulaire variable suivant le degré de l'infection et, dans tous les cas, *mononucléose* avec prédominance des lymphocytes et des formes de transition; pas d'éosinophilie<sup>1</sup>.

#### Diagnostic du Kala Azar infantile. — Étude morphologique du parasite dans les produits recueillis sur le vivant.

#### DIAGNOSTIC CLINIQUE

Le diagnostic clinique du Kala Azar infantile à la période d'état nous paraît aisé. Au début, par contre, les difficultés sont certainement très grandes. On devra suspecter en Tunisie toute anémie fébrile s'accompagnant de troubles digestifs, de pâleur précoce et d'hypertrophie de la rate chez un jeune enfant. L'action de la quinine devra toujours être recherchée; si ce médicament, administré sous forme d'injections intramusculaires, se montre impuissant à enrayer la fièvre, le diagnostic de paludisme se trouvant de ce fait écarté, celui du Kala Azar s'impose. Il est possible qu'il existe en Tunisie des anémies infantiles fébriles différentes du Kala Azar ou du paludisme: jusqu'à présent nous n'en avons pas rencontré. Nous sommes donc autorisés à considérer, jusqu'à preuve du contraire, comme probablement atteints

1: Dans le cas 12; inédit, les recherches du côté du sang ont donné les résultats suivants : Hémoglobine, 6; globules rouges, 992.000; globules blancs, 1.032; formule leucocytaire : grands mononucléaires, 2; lymphocytes et formes de transition, 71; polynucléaires, 27; absence d'éosinophiles et d'hématies nucléées.

de Kala Azar et par conséquent justiciables des procédés expérimentaux de diagnostic, tous les enfants anémiques atteints de grosse rate et de fièvre dont la température n'est pas influencée favorablement par l'emploi méthodique des sels de quinine.

A la période d'état, le diagnostic s'impose. Le tableau est dans tous les cas caractéristique : pâleur, amaigrissement, fièvre irrégulière, fréquence du pouls, troubles digestifs coexistant avec un appétit souvent conservé, hypertrophie énorme de la rate, moindre du foie, œdèmes fugaces et non douloureux, mononucléose sanguine, et, souvent, hémophilie et hémorragies par diverses voies.

Néanmoins, actuellement, le diagnostic de Kala Azar infantile ne peut être affirmé que si la recherche des parasites spécifiques a donné un résultat positif.

DIAGNOSTIC MICROSCOPIQUE. — RECHERCHE DU  
PARASITE SPÉCIFIQUE. — MORPHOLOGIE DE  
*LEISHMANIA INFANTUM* (C. NICOLLE).  
AGENT DU KALA AZAR INFANTILE  
DANS L'ORGANISME DE L'ENFANT

Nous avons recherché la présence du parasite du Kala Azar pendant la vie chez tous nos malades (1) par ponction de la rate et chez quelques-uns seulement par ponction du foie, ou simplement piqûre du doigt (examen du sang périphérique). Dans un seul cas (obs. XI) la ponction de la rate a donné un résultat négatif; cette ponction, par suite d'un accident, n'avait pas intéressé l'organe. Malgré ce résultat négatif, nous avons compris ce cas dans le nombre de nos observations de Kala Azar en raison de l'identité complète des symptômes observés chez l'enfant avec ceux des autres malades.

I. — RECHERCHE DU PARASITE DANS LE PRODUIT DE PONCTION  
DE LA RATE. — DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE DE  
*Leishmania infantum*.

La ponction de la rate chez les enfants atteints de Kala Azar

(1) Chez l'enfant V, vu seulement après la mort, le docteur Cassuto a ponctionné sur le cadavre la rate et le foie; dans le liquide extrait de ces deux organes les parasites étaient nombreux; chez l'enfant VIII chez lequel le diagnostic n'a été porté également qu'après la mort, l'autopsie a montré d'abondants parasites dans les deux organes, une ponction pratiquée dans leur parenchyme au moment de l'entrée de l'enfant à l'hôpital aurait donné un résultat positif.



infantile est rendue des plus aisées par le volume même de l'organe. La pratique nous en a paru tout à fait inoffensive. La consistance de la rate est sans doute un peu diminuée dans le Kala Azar, mais elle reste voisine de la normale et jamais nous n'avons noté de ramollissement de l'organe rappelant ceux qu'on constate dans le paludisme ou la fièvre typhoïde.

Pour pratiquer la ponction, nous faisons immobiliser complètement l'enfant dans le decubitus dorsal et, après avoir désinfecté la peau de l'hypocondre par l'application d'une goutte de teinture d'iode, nous enfonçons dans l'organe l'aiguille d'une seringue stérile. *Il est nécessaire que la seringue et l'aiguille soient parfaitement sèches*, sinon, le sang aspiré se trouvant en contact avec la petite quantité d'eau qu'elles contiennent, s'hémolyse et les préparations qu'on en fait sont mauvaises. D'où la nécessité de sécher seringue et aiguille après la stérilisation en les passant rapidement dans la flamme ou en les mettant quelque temps à l'étuve. Il n'est besoin d'employer qu'une aiguille de petit calibre et courte; la rate de l'enfant est située exactement sous la peau et celle-ci, très amaigrie, ne présente jamais plus de quelques millimètres d'épaisseur. Nous recommandons les *aiguilles en acier* qui piquent bien; nous proscrivons celles en platine iridié qui déchirent et nous n'employons jamais que des *aiguilles neuves*.

Il est inutile de voir le sang entrer par aspiration dans le corps de pompe. Si le sang vient avec abondance, le peu de tissu splénique aspiré se trouve délayé dans le sang, or comme celui-ci ne contient qu'exceptionnellement des parasites, la recherche de ceux-ci qui sont nombreux dans la pulpe de la rate devient difficile et longue. Il faut donc, si l'on voit le sang entrer dans le corps de pompe, cesser de suite d'aspirer et faire les préparations avec la goutte de sang contenue dans l'aiguille. Si rien ne vient, après deux ou trois aspirations, retirer l'aiguille, celle-ci contient toujours au moins une gouttelette de liquide splénique très riche en cellules de la rate et convenant par conséquent très bien au diagnostic.

*L'emploi d'une seringue stérilisée à l'autoclave s'impose si l'on veut faire des cultures*; dans ce cas, la première goutte donnée par l'aiguille sera projetée dans un tube contenant le milieu convenable, et l'on fera usage du reste du contenu de l'aiguille pour

les frottis sur lames. Pour la fixation et la coloration de celles-ci, on suivra la technique classique : alcool absolu, 10 minutes; Giemsa (3 gouttes pour 2 c. c. d'eau distillée) 20 minutes; laver, sécher.

L'examen au microscope donne des résultats toujours identiques et toujours caractéristiques; seul le nombre des parasites diffère.

L'agent spécifique du Kala Azar infantile appartient au genre *Leishmania*, lequel comprend actuellement en dehors de lui deux espèces *Leishmania donovani* (Laveran et Mesnil), agent du Kala Azar indou, et *Leishmania tropica* (Wright), agent du bouton d'Orient. Nous lui avons donné le nom de *Leishmania infantum* (C. Nicolle).

Morphologiquement, dans les tissus, il est identique aux corps de Leishman du Kala Azar des Indes. Comme eux, il se présente sous la forme d'éléments arrondis ou plus souvent ovulaires pouvant présenter dans ce dernier cas de 3 à 4  $\mu$  de longueur sur 2 à 2  $\mu$  8 de large. Examinés sans coloration dans le sang splénique, les parasites se montrent dénués de toute mobilité. La méthode de Giemsa permet de reconnaître leur structure. On distingue nettement sur les individus isolés une *membrane d'enveloppe* mince et transparente; un *protoplasma*, homogène et clair, à peine teinté très légèrement en bleu et, dans ce protoplasma, deux corps chromatiques, le *noyau* et le *centrosome*. (Voir pl. XIV, fig. 1 B.)

Le noyau, ovale ou arrondi occupe généralement une situation médiane par rapport au grand axe et voisine de l'un des grands bords de l'élément. Il mesure, dans sa forme ovulaire, de 1  $\mu$  5 à 2  $\mu$  5 sur 1 à 1  $\mu$  5 de large.

Le centrosome, disposé ordinairement en face de lui, offre toujours une coloration d'une intensité plus grande; la méthode de Giemsa le teinte en rouge grenat alors que le noyau reste violet; il affecte la forme d'un point ou plus souvent d'un petit bâtonnet perpendiculaire ou oblique par rapport au grand axe du protozoaire. L'épaisseur de cet élément ne dépasse pas 0  $\mu$  5, sa longueur pouvant atteindre le triple.

Jamais les *Leishmania* ne présentent de flagelles, même rudimentaires, dans l'organisme.

Au point de vue topographique, on peut les rencontrer sous

trois états : *libres, intracellulaires*, ou groupés en nombre variable dans des sortes de *gangues*.

1. — *Isolés*, ils se présentent sous l'aspect que nous venons de décrire. Tantôt, ils sont absolument libres, leur circonférence tranchant d'une façon très nette sur le fond non coloré de la préparation; tantôt, on distingue autour d'eux une substance à contour mal défini, colorée en bleu violacé très pâle. Cette substance, dont les dimensions peuvent être réduites à celle d'une auréole à peine appréciable, est identique à la gangue qu'on observe autour des parasites agglomérés. Ainsi que nous le verrons plus loin, elle est d'origine leucocytaire.

2. — *Intracellulaires*. L'élément le plus souvent parasité est une grande cellule *mononucléaire*, dont le noyau peut se fragmenter à mesure que les dimensions du protoplasma s'accroissent. (Voir pl. XIV, fig. 1 A.)

Nous avons compté dans certains de ces macrophages, véritables cellules géantes, *jusqu'à 50 ou même 80 parasites*. Jamais le noyau ne paraît envahi. On trouve parfois dans une même cellule des corps de Leishman et des débris de globules rouges. Ces derniers sont toujours en voie de digestion phagocytaire; il est rare, par contre, d'observer des formes de dégénérescence du parasite.

Des cellules de moindres dimensions peuvent servir d'hôtes aux corps de Leishman : *cellules de la rate, leucocytes mononucléaires de volume ordinaire, formes de transition* entre ces cellules et les lymphocytes. Nous n'avons jamais trouvé chez l'enfant, de lymphocytes ou de polynucléaires neutrophiles parasités. Nous verrons plus loin que chez le chien, les polynucléaires peuvent exceptionnellement contenir des *Leishmania* (chien XX).

Lorsqu'on pratique les frottis, le léger traumatisme que subissent ces éléments, véritables sacs gonflés de parasites, suffit pour les déchirer d'où, dans certains cas, le nombre considérable de corps de Leishman libres qu'on rencontre et le nombre relativement restreint de ceux que l'on trouve encore en place dans les cellules hôtes.

On doit admettre cependant que, pendant la vie, un certain nombre de corps de Leishman sont réellement libres. Le fait est indiscutable dans bien des cas, surtout sur les frottis provenant des animaux (chiens, singes). Les formes que nous avons décrites



plus haut, dans lesquelles le contour de l'élément apparaît avec une netteté parfaite sans trace d'auréole périphérique sont en général dans ce cas.

3. — *Parasites contenus dans des gangues. Nature de ces gangues.* Un certain nombre de parasites sont contenus dans des cellules, mais dans une substance mal définie à laquelle MM. Laveran et Mesnil, dans leur étude du Kala Azar indou, ont donné le nom de *gange* et que Christophers a regardé comme bourgeon détaché des cellules parasitées. (Voir pl. XIV, fig. 1 C.)

Nous avons essayé de nous rendre compte par des examens répétés de la nature de ces gangues. Très fréquentes sur certaines de nos préparations, rares sur d'autres, elles présentent des dimensions et des caractères variables. Tantôt, extrêmement réduites, elles ne forment qu'une sorte d'auréole à contour plus ou moins régulier autour d'un ou de quelques protozoaires; tantôt, elles atteignent le volume d'un globule rouge, souvent même un volume double ou triple. Le nombre des parasites qu'elles contiennent est généralement en raison de leurs dimensions. Lorsque celles-ci sont voisines de celles d'une hématie et que le contour de la gange est presque régulier, l'analogie avec un globule rouge est assez grande, et nous ne sommes pas étonnés que certains auteurs, MM. Mesnil et Laveran en particulier, trouvant dans le Kala Azar indou des formes identiques, aient pensé d'abord qu'il s'agissait d'hématies parasitées. Nous avons pu nous rendre compte que, sur nos préparations, cette opinion ne pouvait être soutenue. Il existe, en effet, tous les intermédiaires entre la gange réduite aux dimensions d'une auréole autour d'un parasite et les débris volumineux de protoplasma nettement leucocytaire à contour irrégulier, porteurs de nombreux corps de Leishman. Les réactions colorantes de la substance qui constituent la gange sont, dans tous les cas, exactement les mêmes. Nous avons pu surprendre, sur certains mononucléaires à demi écrasés au moment où le frottis avait été pratiqué, le mode de production de ces curieux éléments. Une des figures qui accompagnent ce mémoire montre d'une façon très nette comment le protoplasme leucocytaire dissocié par le traumatisme du frottis se fragmente et donne naissance à plusieurs débris qui s'isolent autour des parasites qu'ils contiennent. Qu'un de ces débris prenne en roulant une forme arrondie, si ses dimensions sont celles

d'un globule rouge, l'analogie avec cet élément sera très grande. Nous comprenons donc l'opinion soutenue par certains savants, quoique nous ne puissions nous y rattacher.

Jamais, et notre expérience porte actuellement sur l'examen de plusieurs centaines de frottis provenant non seulement de l'enfant, mais de tous les organes examinés à l'autopsie de nombreux animaux infectés expérimentalement, *jamais les corps de Leishman du Kala Azar infantile ne se rencontrent dans les globules rouges.*

Nous avons vu, dans le sang splénique, des *formes de multiplication* du parasite; celle-ci a lieu par *division longitudinale*. Les figures tout à fait démonstratives sont assez rares sur les frottis.

## II. — RECHERCHE DU PARASITE DANS LE PRODUIT DE PONCTION DU FOIE

Nous n'avons jamais observé le moindre accident à la suite de nos ponctions de la rate. Nous avons répété l'opération plusieurs fois chez quelques-uns de nos malades, exceptionnellement même, nous avons fait deux piqûres de l'organe dans une même séance. Deux de nos confrères tunisiens ont ponctionné également sans inconvénient les rates de leurs malades.

Cependant, la piqûre du foie étant *à priori* plus inoffensive que celle de la rate, nous avons étudié, à l'exemple de nos collègues anglais des Indes, ce procédé de diagnostic chez quelques-uns de nos malades afin de nous rendre compte de sa valeur par rapport à la ponction splénique.

Nos recherches ont porté sur 4 enfants. Les résultats obtenus ont été les suivants :

OBS. V. — Ponction faite sur le cadavre par le docteur Cassuto (cas diagnostiqué au moment du décès). Infection intense. Corps de Leishman très nombreux intra ou extracellulaires, gangues. L'aspect du parasite sur les frottis du foie est exactement le même que sur ceux de la rate; nous ne nous arrêterons donc pas à les décrire.

OBS. VI. — Infection intense. Mêmes constatations.

OBS. VII. — Infection au début (4<sup>e</sup> mois). Un seul corps de Leishman a pu être rencontré sur 4 lames examinées. La ponction de la rate, dans ce cas, a donné des parasites nombreux.

OBS. IX. — Infection intense. La ponction pratiquée par le médecin traitant (docteur Domela) a montré la présence de très nombreux parasites.

*En résumé, présence constante, mais, dans un cas, parasites rarissimes.* De ces constatations et de leur comparaison avec les résultats fournis par la même recherche pratiquée sur nos animaux d'expérience (un seul résultat négatif chez les chiens infectés), il résulte que la ponction du foie est un procédé généralement très bon, mais qu'il se montre cependant inférieur à la ponction splénique. Dans les cas d'infection légère ou au début, il est possible qu'il ne donne pas de résultats. Or, c'est dans ces cas qu'il serait particulièrement intéressant d'être renseigné. Nous ne croyons donc pas que la ponction du foie soit appelée à remplacer celle de la rate pour le diagnostic du Kala Azar chez l'enfant, du moins dans les cas douteux ou au début.

Nous verrons que ce procédé constitue au contraire la méthode de choix pour suivre la marche de l'infection expérimentale chez les animaux dont la rate, ou bien n'est pas hypertrophiée (chien), ou bien si elle l'est (singe), ne saurait être facilement ponctionnée.

Au point de vue technique, la ponction du foie se pratique de la même façon que la ponction splénique.

### III. — RECHERCHE DU PARASITE DANS LE SANG PÉRIPHÉRIQUE

Cette recherche peut être pratiquée, soit directement sur le sang recueilli sur lames, soit sur le même produit citraté, puis centrifugé, en examinant dans ce cas la couche supérieure du culot, constituée principalement par les globules blancs et les hémato blastses.

Nous exposerons plus loin la technique de ce dernier procédé et les résultats qu'il nous a fournis pour la recherche des corps de Leishman chez les animaux d'expérience. Sauf, dans un cas négatif, nous ne l'avons jamais utilisé pour déceler la présence du parasite chez les enfants infectés. Nous nous sommes contentés de faire cette recherche sur les frottis du sang.

Nos examens ont porté sur sept malades (1) : chez un seul dont le sang a été observé à trois reprises (obs. I) nous avons rencontré et une seule fois un grand mononucléaire porteur de cinq corps de Leishman. Plus heureux relativement que nous, Cathoire, dans son unique cas, aurait trouvé des parasites dans le sang de son malade.

(1) Résultat négatif également dans le cas 12, inédit.



La présence des corps de Leishman, étant aussi inconstante dans le sang, leur recherche ne saurait constituer un moyen de diagnostic de la maladie chez l'enfant.

#### DIAGNOSTIC PAR LA CULTURE EN MILIEU APPROPRIÉ DES PRODUITS DE PONCTION DE LA RATE ET DU FOIE

Nous exposerons plus loin comment nous sommes arrivés à cultiver sur milieux spéciaux le parasite du Kala Azar. Il est aisé d'obtenir cette culture en partant du liquide de ponction de la rate ou du foie des malades. Dans tous les cas où nous avons tenté cette culture, les résultats ont été positifs.

*Culture avec le produit de ponction splénique* : obs. I, II, IV, VI.

*Culture avec le produit de ponction hépatique* : obs. VI et VII; il est à noter que dans ce dernier cas la présence des parasites était rarissime, puisqu'un seul corps de Leishman avait pu être retrouvé sur quatre lames examinées.

Il nous paraît tout à fait probable que la culture des produits de ponction splénique et hépatique donnerait un résultat plus constant pour le foie et plus précoce pour la rate que l'examen microscopique.

Aux premiers temps de la maladie, ce serait sans doute le *procédé de choix*. Malheureusement, il ne peut être mis en pratique que par quelqu'un déjà rompu à la technique de culture des protozoaires.

Nous n'avons tenté la culture du sang périphérique sur milieu approprié que dans un cas (obs. XI); le résultat négatif est sans valeur, la ponction de la rate chez le même malade ayant été blanche.

En dehors de la rate, du foie et du sang nous avons recherché sans résultat la présence des corps de Leishman dans le *liquide d'œdème*, l'*urine* et les *selles* du premier de nos malades.

#### Anatomie pathologique du Kala Azar infantile.

Notre étude est basée sur l'autopsie de *deux cas* (obs. I et VIII). La première de ces autopsies a été partielle; nous l'avons pratiquée avec le docteur Cassuto au domicile de la petite malade. Nous ne saurions être trop reconnaissant à la famille qui a su comprendre

l'intérêt de nos recherches et qui a consenti à les autoriser. La seconde autopsie a été faite par le docteur Porot à l'hôpital civil de Tunis; notre confrère a bien voulu nous en communiquer les résultats et nous confier une partie des pièces recueillies.

## I. — CONSTATATIONS MACROSCOPIQUES

OBS. I. — Présence d'une notable quantité de liquide dans la cavité péritonéale.

*Rate énorme*, elle remplit une bonne partie de la moitié gauche de l'abdomen en avant et sa presque totalité en arrière. Pas d'adhérences. Les ponctions (quatre) n'ont laissé aucune trace à la surface<sup>10</sup><sub>2</sub> de l'organe.

Ses dimensions sont de 18 centimètres de hauteur, 11 en largeur, 4 pour la grande épaisseur. La partie la plus épaisse de la rate est son extrémité supérieure, surtout en arrière; le bord antérieur et l'extrémité inférieure sont aplatis et minces. La couleur est brune, la consistance assez friable; le poids atteint 480 grammes. Deux encoches sur le bord postérieur.

Le *foie* est à peine augmenté de volume, ferme, de couleur normale à la surface et à la coupe.

Le *rein* gauche d'aspect normal, pèse 62 grammes. *Pancréas* sain. *Ganglions mésentériques* un peu gros, roses sur la coupe.

Un *segment d'intestin grêle* examiné (1<sup>m</sup>,50 portant sur le jéjuniléon) ne montre ni ulcérations, ni congestion; les plaques de Peyer ont leur aspect ordinaire.

*Une languette du poumon droit*, extraite par une incision pratiquée au travers du diaphragme, donne par expression un peu de liquide spumeux, mais le tissu n'est pas congestionné et la languette flotte sur l'eau. On ne peut dire, à proprement parler, qu'il y ait œdème pulmonaire. Il existe un peu de liquide dans la cavité pleurale.

OBS. VIII. — L'enfant, dans ce cas, est mort de diphtérie laryngée compliquée de bronchopneumonie.

*Appareil respiratoire*. — Lésions de *bronchopneumonie* pseudolobaire. En outre, suppuration bronchique avec bronchite pseudomembraneuse, surtout marquée au poumon gauche. Les poumons pèsent 180 grammes (le gauche) et 160 (le droit).

Le *foie*, gros, 850 grammes, uniformément hypertrophié, descend jusqu'à l'ombilic, surface lisse sans périhépatite; cou-

leur plutôt pâle, consistance normale; aspect uniforme à la coupe, un peu gros.

*Rate très grosse*, uniformément hypertrophiée, ayant gardé sa configuration et ses encoches normales; pas de périsplénite; ferme à la coupe, sans sclérose, couleur rouge sombre. Dimensions  $14 \times 8,5 \times 3$ ; poids 230 grammes.

*Intestin normal*; *ganglions mésentériques* un peu gros. Pas d'ascite.

*Reins* (65 et 60 grammes) gros, pâles, lésions de néphrite parenchymateuse aiguë. *Capsules surrénales normales*. *Myocarde* un peu pâle. *Moelle osseuse* (fémur) rouge.

## II. — ÉTUDE MICROSCOPIQUE. LOCALISATIONS DU PARASITE.

FROTTIS. — Les résultats ayant été sensiblement les mêmes dans les deux cas, nous en donnons une commune description, nous bornant à relever seulement les quelques légères différences observées.

*Rate*. — L'aspect est le même que sur les préparations recueillies pendant la vie. Les corps de Leishman sont en nombre considérable. La majeure partie se rencontre dans des cellules *mononucléaires* de toutes dimensions, dont le noyau peut quelquefois être fragmenté, mais qu'il n'est pas possible de confondre dans ce cas avec des *polynucléaires* en raison des caractères de leur protoplasma. Les cellules les plus parasitées peuvent contenir jusqu'à 50 et 80 parasites (moins dans le cas cas VIII). On rencontre des parasites *isolés* et d'autres inclus dans des débris cellulaires (*gangues*) de dimensions et d'aspect variables, mais dont l'origine leucocytaire est manifeste.

*Jamais nous n'avons trouvé de corps de Leishman dans des polynucléaires véritables* (neutrophiles), *des lymphocytes ou des globules rouges*. Les parasites n'occupent jamais le noyau des cellules qu'ils ont envahies. Les *formes de multiplication* sont les mêmes que sur les frottis recueillis pendant la vie.

*Foie*. — Les parasites, toujours moins nombreux que sur les frottis de rate, se présentent à cela près avec des caractères identiques. Ils sont contenus dans des *mononucléaires* presque toujours très volumineux, bien plus rarement dans des débris cellulaires (*gangues*); on en rencontre peu de libres.

Les *mononucléaires* du foie peuvent héberger un nombre de



corps de Leishman aussi considérable que les cellules les plus parasitées de la rate.

*Moëlle osseuse.* — (Examinée dans le cas VIII seulement). Nombre considérable de corps de Leishman, libres ou plus souvent contenus dans des mononucléaires. Absence de parasites dans les polynucléaires et globules rouges.

*Ganglions mésentériques.* Corps de Leishman exceptionnels.

*Capsule surrénale* (obs. VIII). — Absence de parasites.

*Poumons.* — Corps de Leishman exceptionnels. Dans le cas VIII, infiltration leucocytaire intense, streptocoques.

*Reins.* — Parasites exceptionnels.

*Pancréas. Intestin grêle* (obs. I). — Absence de corps de Leishman.

COUPES. — L'étude des coupes confirme les résultats donnés par l'examen des frottis. Nous ne trouvons d'intéressant à relater que les constatations faites sur la rate et le foie.

*Rate.* — Les cellules mononucléaires ou leurs débris constituent l'habitat exclusif des corps de Leishman; ces cellules paraissent appartenir à l'endothélium des capillaires sanguins; il ne semble y avoir que peu de parasites réellement libres.

*Foie.* — *Les parasites sont exclusivement contenus dans les cellules endothéliales des vaisseaux*, principalement dans des capillaires (pl. XIV, fig. 2 A et B). Ces cellules prennent souvent des dimensions considérables et font saillie dans la lumière du vaisseau qu'elles peuvent réduire à l'état d'une simple fente (fig. 2 B); elles contiennent un nombre variable et souvent énorme (50 et plus) de corps de Leishman, parfaitement reconnaissables à leur forme, leurs dimensions et la présence du noyau et du centrosome.

La réduction de la lumière des vaisseaux du foie est sans doute la cause du développement de la circulation veineuse collatérale observé sur la paroi abdominale de nos malades.

La seule lésion histologique de l'organe que nous avons notée consiste dans une *infiltration leucocytaire* sous forme de *nodules périvasculaires*. Il ne nous paraît pas utile de parler des autres lésions rencontrées au microscope, elles étaient à peu près nulles sur l'enfant I et celles que nous avons observées sur l'enfant VIII relevaient d'une infection secondaire (diphtérie compliquée de bronchopneumonie) et non du Kala Azar.

La *méthode de coloration* qui nous a donné les meilleurs résultats pour les coupes, consiste dans l'emploi de la solution de Giemsa (1 goutte pour 1 c. c. d'eau distillée, laisser agir 30 à 40 minutes) suivi d'un lavage à l'eau, puis de l'insolubilisation par la solution de tannin à 2 0/0.

### III. — CONCLUSIONS

En résumé, les lésions caractéristiques du Kala Azar infantile consistent à l'œil nu dans une hypertrophie énorme de la rate, notable mais moindre du foie et dans la coloration rouge de la moelle des os. Les parasites sont extrêmement nombreux dans ces trois organes, exceptionnels ou très rares dans les autres.

Ils se montrent presque exclusivement contenus dans des cellules mononucléaires de dimensions variables, souvent énormes; ces cellules semblent en majorité appartenir à l'endothélium vasculaire.

On ne trouve jamais de corps de Leishman dans les globules rouges du sang.

Nous retrouverons ces mêmes données lorsque nous parlerons des constatations faites à l'autopsie des animaux spontanément malades (chien) ou infectés expérimentalement (chiens, singes). Chez eux, de même que chez l'enfant, le Kala Azar se présente comme une infection des mononucléaires de la rate, du foie et de la moelle osseuse. Nous noterons cependant chez quelques animaux la présence possible de parasites dans des cellules où nous ne les avons jamais rencontrés chez nos malades (polynucléaires, cellules hépatiques.)

### **Rapport du Kala Azar infantile avec le Kala Azar des Indes et certaines anémies infantiles des pays méditerranéens.**

Le bref tableau clinique que nous avons donné, au début de cet article, du Kala Azar indou contient cependant les symptômes essentiels de cette maladie. Il suffira de s'y reporter pour voir qu'il y a identité clinique entre l'infection observée aux Indes anglaises et celle que nous avons étudiée en Tunisie. Il ne faut pas en effet s'attarder au symptôme qui a fait donner à la maladie son nom par les indigènes de l'Inde. Leur observation a été aussi superficielle que grossière, et si le malade indou ne

paraît pas aussi pâle que l'enfant tunisien ce n'est là sans doute qu'un effet dû à la pigmentation normale de sa peau. Il nous paraît inadmissible que celle-ci reste colorée dans une infection aussi anémiant que l'est le Kala Azar des Indes.

*Une seule différence sépare la maladie indoue de la tunisienne;* elle nous paraît capitale et légitime à nos yeux la conception du Kala Azar de Tunisie comme une affection autonome; c'est, nous l'avons déjà dit, *l'âge des malades* : le Kala Azar des Indes ne connaît pas d'âge; adultes, adolescents, enfants sont également frappés; sur les cas observés en Égypte, trois concernent des adultes, le quatrième un garçon de 14 ans; le cas plus récent de Crète est celui d'un soldat. Or, en Tunisie, malgré des recherches systématiques, dirigées aussi bien du côté des adultes que de celui des enfants, nous n'avons pu recueillir que des observations sur des sujets en bas âge appartenant presque tous à la première enfance. Nos observations atteignent actuellement un total de 11 (1). Ce chiffre est encore limité, il nous paraît cependant impossible d'admettre que seul le hasard ait fourni uniquement jusqu'à présent à notre examen de jeunes enfants. Jusqu'à démonstration du contraire, et l'existence en Tunisie de cas chez l'adulte n'y suffirait pas, car les deux maladies, la classique (type indou) et l'infantile (type tunisien) pourraient se rencontrer à la fois et se rencontrent sans doute dans un même pays (l'Égypte par exemple), jusqu'à preuve du contraire, nous continuerons à considérer la maladie observée par nous en Tunisie sur les enfants, comme différente de l'infection décrite antérieurement dans les Indes. C'est pour cette raison que nous lui avons donné un nom spécial, celui de *Kala Azar infantile*.

Il est permis de se demander sous quelle étiquette étaient rangées, avant que nous en ayons démontré la nature, les observations tunisiennes identiques à celles que nous venons de décrire. Le Kala Azar, affection de connaissance asiatique, était inconnu il y a quelques années à peine. Sans doute, un certain nombre de cas observés antérieurement en Tunisie étaient considérés comme appartenant au paludisme. Cependant, l'impuissance constatée de la quinine sur la fièvre devait frapper le médecin et l'hypothèse de paludisme se trouvant écartée de ce fait, les cas analogues aux nôtres ne pouvaient prendre place que dans le groupe mal connu

(1) La 12<sup>e</sup> observation inédite concerne un enfant de 2 ans et 9 mois.



et mal délimité des *anémies spléniques infantiles*. En pays non paludéen, ce diagnostic s'imposait, pour ainsi dire, d'emblée.

Si nous voulons donc savoir où retrouver les observations anciennes de Kala Azar infantile, c'est parmi les anémies spléniques de l'enfance que nous devons les chercher. De même, pour trouver aujourd'hui, en dehors de la Tunisie, des cas nouveaux, ce sont les malades classés dans ce groupe qu'il conviendra d'étudier.

Arrêtons-nous donc un instant aux travaux publiés antérieurement sur les anémies spléniques infantiles; nous y trouverons quelques faits d'observation et une conception sans doute un peu prématurée dans sa base scientifique, mais parfaitement exacte dans son expression de la nature de certains cas d'anémie à grosse rate de l'enfance.

L'anémie splénique infantile, décrite pour la première fois par Hénoc (1881), est également désignée sous les noms d'anémie splénique infectieuse, anémie pseudo leucémique des enfants. Elle a fait l'objet d'un grand nombre de travaux, principalement en Italie, où la maladie paraît être plus fréquente ou mieux connue. Parmi les auteurs qui l'ont plus spécialement étudiée nous devons citer F. Fede (1) qui lui a consacré une série de publications à partir de l'année 1888, G. Somma (2), V. Jaksh (3), enfin Pianese (4).

L'anémie splénique infantile est une affection des tout jeunes enfants (1<sup>re</sup> et 2<sup>e</sup> années). Fede distingue deux formes, l'une fébrile, l'autre non fébrile. Cette dernière qui correspond au type décrit par Hénoc n'offre pour nous aucun intérêt; nous ne nous y arrêterons pas.

(1) FRANCESCO FEDE, *Riforma medica*, 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> leçons inaugurales, 1888-1889; *Accademia Medico-chirurgica di Napoli* (1889 et 1890); *Congresso dell' Associazione Medica in Padova*; 1<sup>o</sup> Congresso it. de pediatria a Roma (octobre 1890); la *Pediatria*, 1<sup>re</sup> année, 1<sup>er</sup> numéro, 1893. Les idées de Fede sur l'anémie splénique infantile qu'il nomme *anemia splenica infettiva* sont exposées en détail dans ce dernier article et résumées dans les commentaires dont il accompagne sa traduction du *Traité des Maladies des enfants de Baginsky* (2<sup>e</sup> édition italienne, p. 333 et suivantes. Vallardi éditeur, Milan); il faut ajouter à cette liste les travaux de plusieurs élèves de Fede, CIMA, la *Pediatria*, 1902, n° 10; PETRONE, la *Pediatria*, 1905; n° 5 à 10; et *Arch. de med. experim.* 1907, n° 6 etc. Nous remercions vivement M. le professeur Fede qui a bien voulu nous communiquer la presque totalité de ces travaux.

(2) SOMMA, *Dell'anemia splenica infantile*, Naples, 1890. Cette monographie paraît épuisée.

(3) V. JAKSH, *Prager. med. Wochenschrift*, 1890.

(4) G. PIANESE, *Sull'anemia splenica infantile*. Comunicazione con dimostrazione di preparati. fatta alla 20 riunione dei Patologi in Roma, maggio, 1905. Extrait de la *Gazette internazionale di medicina*, année VIII, Naples 1905. Imprimerie du journal, via Pellegrini a Toledo 5.

La seconde forme, la seule importante au point de vue qui nous occupe se caractérise, pour Fede, par une fièvre très irrégulière, de type variable, continue, renitente ou intermittente, procédant par poussées alternant avec des périodes d'apyrexie, et durant des mois. Il existe des troubles gastrointestinaux, en particulier de la diarrhée, quelquefois de l'ictère. La rate est volumineuse, le foie hypertrophié. Les lésions sanguines consistent dans la diminution du nombre des globules rouges (1,600,000 dans certains cas); le nombre des globules blancs et la formule leucocytaire seraient variables; les éosinophiles sont absents. La maladie se termine généralement par la mort. L'autopsie ne montre rien de bien spécial. Dans ses deux formes, l'anémie splénique infantile se distingue des anémies leucémiques par l'absence de toute hypertrophie ganglionnaire.

L'étiologie en est obscure; Cardarelli en aurait rencontré plusieurs cas chez des enfants de la même famille (1).

Nous sommes portés, d'après ce que nous avons lu, à considérer l'anémie splénique infantile comme une étiquette sous laquelle se cachent des maladies diverses que le progrès de nos connaissances nous apprendra à différencier, ce que nous ne savons encore faire actuellement.

Pianese, dont l'opinion se rapproche de la nôtre, donne des cas observés par lui, une description brève et générale qui permettrait de les ranger plutôt dans la seconde classe de Fede.

Les premières recherches expérimentales pratiquées sur l'anémie splénique infantile ont fait attribuer cette maladie à diverses bactéries isolées de la rate à l'autopsie. Pianese avait autrefois décrit comme agent causal de l'infection un microbe qu'il identifie aujourd'hui avec le *Bacterium coli*. Il fut conduit à abandonner sa première hypothèse à la suite des résultats que lui fournit l'autopsie d'un jeune enfant, pratiquée dans des conditions exceptionnelles, une heure seulement après la mort. Les cultures faites avec la pulpe splénique restèrent stériles: il n'existait dans les organes aucune bactérie libre, tandis que certaines cellules de la rate, du foie et de la moelle des os, étaient remplies de granulations spéciales se teignant par les couleurs basiques.

(1) *Boll. dell' Acad. medicochirurgica di Napoli*, II, année 1890. On peut rapprocher de cette constatation ce fait que le Kala Azar, dans certaines régions de l'Inde, paraît épidémique.

Dans quatre autres cas plus tard, Pianese retrouva des figures analogues. Par contre, l'examen de sept autres malades ne lui donna que des résultats négatifs.

Les corpuscules intracellulaires observés par Pianese sont pour lui des éléments de nature spéciale. Ils mesurent de 3 à 4  $\mu$ . Leur structure, mal visible lorsque ces corps sont très nombreux et en contact, devient au contraire manifeste lorsqu'ils sont rares et écartés; on leur reconnaît alors un nucléole central arrondi, bien délimité, basophile et un protoplasma acidophile, tantôt homogène, tantôt granuleux, nettement entouré par une membrane. Ces corps sont généralement arrondis, le nucléole dans ce cas, occupe une position centrale, mais ils peuvent être ovales ou piriformes, le nucléole devient alors excentrique. Sur certains éléments plus allongés, il prend même la forme d'un bâtonnet. On peut compter jusqu'à 50 corpuscules par cellule; leurs dimensions, égales chez un même hôte, varieraient d'une cellule à l'autre. Les éléments parasités mesurent de 25 à 30  $\mu$ , leur noyau présente des altérations variées; ils siègent dans la pulpe splénique entre les lacunes sanguines ou autour d'elles, jamais dans les follicules; dans le foie, ils sont toujours situés entre les capillaires sanguins; dans la moelle osseuse, ils n'offrent pas de disposition spéciale. Groupés dans la moelle des os et dans la rate, ils sont presque toujours isolés dans le foie. En raison de leurs caractères, l'auteur les considère comme des cellules endothéliales plus ou moins modifiées. Le sang périphérique ne présente ni corpuscules libres, ni cellules parasitées.

Cette description donnée, Pianese discute sur la nature de ces corps. Il se refuse à y voir des produits d'origine cellulaire ou des bactéries. Il incline plutôt à penser que ce sont des protozoaires et comme il vient d'avoir connaissance des travaux de Leishman et Donovan, ses doutes font place à une brusque certitude et il conclut à l'identité de ces corpuscules avec les formes parasitaires décrites dans le Kala Azar. D'où le titre significatif donné à son travail : *Anemia splenica infantile. Anemia infantum Leishmania.*

Il suffit de rapprocher ces constatations des descriptions que nous avons données de nos cas pour se rendre compte qu'il y a entre elles une très grande analogie, mais que les préparations de Pianese, colorées par une méthode imparfaite, ne pouvaient



entraîner une conviction définitive; le noyau et le centrosome, si caractéristiques des corps de Leishman, n'ont pas été observés par l'auteur mais plutôt confondus et décrits comme les formes variables d'un même et unique nucléole.

Les déductions de Pianese n'en sont pas moins justes. De bonnes observations cliniques et de constatations microscopiques incomplètes, il a tiré une conclusion exacte. Nos recherches en apportent la démonstration indiscutable. A deux reprises, nous avons demandé à M. Pianese de vouloir bien nous adresser de ses préparations; nous regrettons qu'il n'ait pu le faire. Nous aurions été heureux de les comparer avec les nôtres. Quoiqu'il en soit du doute qui doit subsister encore dans l'esprit, le travail de M. Pianese nous paraît mériter d'être inscrit en tête d'une étude du Kala Azar infantile et nous pensons que cette affection dont l'existence est démontrée d'une façon surabondante en Tunisie, se rencontre également dans le sud de l'Italie et sans doute sur bien des points du littoral méditerranéen. Il est en tout cas indiqué maintenant de l'y chercher (1).

### Culture de « *Leishmania infantum* ».

#### HISTORIQUE

C'est à Rogers (*Lancet*, 23 juillet 1904) que revient le mérite d'avoir le premier obtenu le développement sur milieu artificiel des corps de Leishman isolés du Kala Azar des Indes. Ses premières cultures étaient faites par l'ensemencement du produit de ponction splénique en sang citraté à 10 0/0; les tubes étaient mis ensuite à 27° ou mieux à 22°. Nous renvoyons aux différents articles publiés par Rogers pour l'étude des conditions et des caractères de culture de ce parasite. (*British Med. Journ.*, 17 septembre 1904; *Quarterly Journ. of micr. Sc.*, 3 novembre 1904.)

Ces résultats ont été confirmés par Chatterjee (*Lancet*, 3 décembre 1904 et 5 janvier 1905), Leishman et Statham (*Journ. R. Army Med. Corps*, mars 1905), Christophers (*Scient. Mem.*

(1) Postérieurement à la date de rédaction de cet article, nous avons reçu deux publications du Prof. GABBI (de Messine) qui avait observé treize cas de Kala Azar (dont douze chez l'enfant) aux environs de Messine et Reggio ainsi que dans les îles Lipari. La ponction de la rate, pratiquée chez trois malades seulement, aurait donné deux fois un résultat positif. Un de ces cas se rapporte à un jeune homme de 18 ans. Cette observation a besoin, à notre avis, d'être confirmée. Nous reviendrons, dans une publication ultérieure, sur ces travaux.

*Gov. of Ind.*, 1905) et Maekensie (*Journ. R. Army*, novembre 1905).

Dans ses communications les plus récentes (*Lancet*, 3 juin 1905 et *Proc. Roy. Soc.* 26 février 1906), Rogers préconise l'addition au sang citraté d'une petite quantité de solution d'acide citrique.

Sur ces milieux, les résultats sont inconstants, la culture ne vit qu'un temps assez court (1 à 2 semaines) et un repiquage positif n'a été obtenu que dans un cas (Leishman et Statham).

Nous avons essayé vainement de cultiver nos parasites dans le milieu de Rogers (sang de lapin citraté additionné d'acide citrique). Deux tentatives, pratiquées avec le produit de deux ponctions de la rate chez notre premier malade ne nous ont donné que des résultats négatifs. A la température de 22°, les parasites se sont conservés pendant sept jours avec leurs caractères ordinaires sans subir de modifications appréciables, mais sans se multiplier. Au huitième jour, ils ont commencé à s'altérer, pour devenir méconnaissables à partir du douzième jour.

Lesensemencements dans l'eau de condensation de tubes de gélose au sang (*milieu de Novy et Mac Neal*) nous ont donné au contraire d'emblée une culture positive (produit de ponction splénique du 27 novembre) chez notre premier malade. Nous avons réussi depuis d'une façon constante les cultures toutes les fois que nous les avons essayées, en ensemençant sur ce milieu le produit de ponction de la rate ou du foie de nos malades ou de nos animaux d'expériences. Roger savait dit cependant n'avoir pu obtenir sur le même milieu le développement du parasite du Kala Azar indou.

#### TECHNIQUE DE LA CULTURE

Nos premières cultures ont été faites sur le *milieu classique de Novy et de Mac Neal* : eau de condensation de tubes de gélose ordinaire au sang. Nous avons eu l'idée depuis de simplifier ce milieu en supprimant la viande et la peptone. La neutralisation devient de ce fait inutile. Ce milieu n'est pas seulement plus simple que le milieu de Novy, il est aussi de composition et de réaction plus constantes. Il convient aussi bien que lui, sinon mieux, à la culture des protozoaires. En dehors du parasite du Kala Azar, nous avons pu y cultiver et y entretenir depuis plus d'un an le trypanosome de la chauve-

souris (*T. verpertilionis*). Nous avons réussi également sur lui, le premier, la culture du protozoaire du bouton d'Orient. Une condition indispensable à la fabrication du milieu est, ainsi que nous nous en sommes rendus compte avec M. Manceaux, la *pureté de l'agar*. Il convient donc tout d'abord de débarrasser par un lavage dans l'eau la gélose dont on doit faire usage des sels ou impuretés de toutes sortes qu'elle contient. On y parvient en la laissant macérer dans l'eau froide pendant 24 heures et en changeant l'eau une fois. On tient compte naturellement de la quantité d'eau absorbée par l'agar pendant sa macération.

*Notre milieu* a la formule suivante :

Gélose.....	14 grammes
Sel marin.....	6 grammes
Eau.....	900 c. c.

Il est réparti dans des tubes à essais de diamètre assez gros, sans neutralisation ou alcanisation préalable, puis stérilisé à l'autoclave. Les tubes, liquéfiés à 48-52° sont additionnés chacun *d'un tiers de leur volume de sang de lapin* prélevé par ponction aseptique du cœur. On les incline pendant une douzaine d'heures pour les porter ensuite pendant 2 ou 3 jours à l'étuve à 37°. On les conserve dans l'obscurité à la température ordinaire; il est préférable de n'en faire usage qu'au bout de quelques jours. Ils conservent leurs qualités nutritives pendant plus d'un mois. Un inconvénient de ce milieu est la petite quantité d'eau de condensation qu'il présente; la culture obtenue ne dépasse guère un à deux centimètres cubes en volume. En outre, ce liquide peu abondant a tendance à s'évaporer plus ou moins totalement; on y remédie en fermant les tubes à la cire avant de les mettre à l'étuve pour les éprouver.

Nous avons obtenu récemment de bons résultats en additionnant, avant cette mise à l'étuve, l'eau de condensation des tubes avec un volume égal de sérum physiologique. La culture se fait sensiblement aussi bien dans ce cas; la masse de liquide étant plus grande, celui-ci se dessèche moins; il devient ainsi inutile de faire usage de la cire dont l'emploi est toujours une complication désagréable au moment de l'ouverture, du flambage et de la fermeture des tubes. Il est prudent cependant de ne pas dépasser la quantité de sérum physiologique que nous



venons d'indiquer; si cette quantité atteignait le double du volume de l'eau de condensation, la culture ne se ferait pas ou très mal et les protozoaires ensemencés prendraient des dimensions énormes pour périr rapidement de cette hydropisie.

Nous désignons notre milieu, simplification de celui de Novy et Mac Neal, sous la triple initiale N. N. N.

Les ensemencements se font soit à la pipette, soit au fil de platine. Les tubes doivent être mis à l'étuve à 18-22°.

### MORPHOLOGIE DU PARASITE DANS LES CULTURES

(Pl. XV, fig. 6-1°.)

Sur notre milieu comme sur celui de Novy et Mac Neal, à la température indiquée, le développement commence vers le 4<sup>e</sup> ou 5<sup>e</sup> jour; la culture est déjà assez abondante au 7<sup>e</sup> jour; elle est abondante vers le 15<sup>e</sup>; elle continue à s'enrichir jusqu'au 30<sup>e</sup> jour; mais déjà, à ce moment, les formes immobiles prédominent. Sa vitalité ne semble pas dépasser généralement 1 mois 1/2. Il est prudent pour éviter des insuccès dans les repiquages de pratiquer ceux-ci tous les 15 ou 20 jours.

Ces repiquages sont aisés; nous avons pu en pratiquer plus de vingt avec notre culture primitive (cas I); un accident nous a fait la perdre pendant les vacances dernières, mais le professeur Novy auquel notre ami M. Mesnil en avait adressé un exemplaire a pu conserver jusqu'à ce jour des cultures provenant de cette première souche. Nous possédons actuellement des cultures des souches plus récentes qui comptent une dizaine de passages.

On peut affirmer que, sauf accident, ces cultures sont indéfiniment repiquables. Il en est ainsi de celles de la *Leishmania* du bouton d'Orient. Sur le milieu N. N. N., comme sur le milieu de Novy et Mac Neal, l'élément le plus jeune en culture est un corps presque identique aux formes qui se voient dans l'organisme humain; il est seulement d'un volume plus considérable, double ou triple ordinairement (fig. 6); on reconnaît facilement le *noyau* et le *centrosome*, tous deux de dimensions un peu plus grandes. Le parasite, à ce stade, est arrondi, ovalaire ou piriforme. Un état plus avancé est celui que représente la figure 7; même aspect, mêmes dimensions (16  $\mu$  sur 12 sur la figure), même structure intérieure; on observe seulement de plus la présence d'un *flagelle* plus ou moins long, en général un peu plus long que le

parasite lui-même. L'origine de ce flagelle est, sur certains individus, très manifestement en rapport avec le centrosome.

Aux stades plus avancés, le parasite s'éloigne de plus en plus de l'aspect qu'il présentait dans l'organisme pour revêtir celui d'un flagellé typique. Les figures 8, 9, 10, 11, 14 montrent les formes, les dimensions et les variétés de structure qu'on peut alors observer. D'abord court, ovale ou piriforme (8-10), le parasite s'allonge (11-13) jusqu'à devenir très long et très étroit (14). Ses dimensions, suivant ces formes, varient de 8 à 24  $\mu$  en longueur sur 4 à 15  $\mu$  pour la largeur. Le flagelle offre toujours une longueur égale ou légèrement plus grande que celle du corps. L'extrémité opposée au flagelle (extrémité postérieure), arrondie dans les formes trapues, s'effile de plus en plus jusqu'à devenir quelquefois pointue dans les formes plus longues.

L'aspect et les dimensions des deux corps chromatiques sont peu variables. Le noyau, arrondi ou ovalaire (dans les formes étroites), présente ordinairement dans le premier cas un diamètre de 2  $\mu$ ; il mesure 3  $\mu$ , sur 1  $\mu$ . 5 dans les formes les plus minces. Le centrosome, toujours en bâtonnet, ne dépasse guère 1  $\mu$  en largeur, sa longueur pouvant varier du double au triple.

Ces deux corps sont disposés toujours de même manière, le centrosome du côté du flagelle, le noyau du côté de l'extrémité opposée. Dans ce rapport constant, leur siège précis est très variable. Généralement placés à distance l'un de l'autre, on peut les voir se rapprocher, venir même en contact (nos figures représentent les principales de ces dispositions); ils peuvent, lorsqu'ils sont ensemble, occuper le centre de l'élément ou l'une des extrémités; l'un peut être central, l'autre périphérique ou bien chacun peut siéger vers une extrémité du parasite.

La méthode de Giemsa colore le noyau en violet jamais très intense, le centrosome en rouge vif; le flagelle offre une coloration intermédiaire; le protoplasma se teinte en bleu violacé.

L'épaisseur du cil varie suivant l'intensité ou la durée de la coloration; plus celle-ci est poussée loin, plus le dépôt de matière colorante à la surface du flagelle en augmente le volume apparent.

Les formes de multiplication sont très abondantes dans les cultures, la division longitudinale en est le seul mode. Elle peut se produire à tous les stades de développement du parasite. D'où

des images variées dont quelques-unes sont reproduites par les figures 15, 16 et 17.

La *division* commence tantôt par le noyau, tantôt par le centrosome; il ne semble y avoir aucune règle à cet égard. La séparation du flagelle est un phénomène souvent précoce; néanmoins les corps à deux flagelles sont bien plus rares que dans les cultures de la *Leishmania* du bouton d'Orient, où elles offrent une fréquence qui nous a paru caractéristique de ce protozoaire.

Déjà, sur les cultures datant d'une dizaine de jours, on remarque la présence de quelques *rosaces*; celles-ci deviennent de plus en plus abondantes à mesure que la culture vieillit. Elles se rencontrent surtout au contact de la partie solide du milieu ou vers le fond du tube. *Dans ces rosaces, les parasites sont agglomérés*, leur extrémité antérieure, c'est-à-dire le *flagelle*, *dirigée vers le centre* de la rosace (voir fig. 18 et 19).

A l'exception des parasites qui siègent au centre de rosaces volumineuses et des individus dégénérés qu'on trouve dans les très vieilles cultures, toutes les formes que nous venons de décrire sont *mobiles*. *Leur déplacement se fait le flagelle en avant*: il est généralement, sauf pour les formes minces, assez peu rapide: souvent l'infusoire oscille seulement sur place.

Le *cil* se voit très nettement sur les préparations non colorées. il est animé d'un mouvement ondulatoire très rapide qui lui donne, lorsqu'il s'agite, la forme d'une spire.

*Sur aucun parasite, nous n'avons vu trace d'une membrane ondulante.*

La *technique* qui nous a donné les meilleurs résultats pour les préparations colorées, consiste à recueillir le liquide de culture, à le déposer dans un tube de verre de faible diamètre (pipette) à extrémité conique, à l'additionner de sérum physiologique neuf; on centrifuge; puis on aspire à la pipette les parties supérieures et claires du liquide; on additionne d'une quantité égale de sérum physiologique; on centrifuge à nouveau; puis le dépôt est étendu sur lames; on fixe par l'alcool absolu une heure; on colore enfin par la solution de Giemsa étendue, à la façon d'une préparation de sang.

(A suivre.)



## EXPLICATION DES PLANCHES XIV ET XV

Pour toutes les figures, le grossissement est d'environ 1,000 à 1,200 D.

PLANCHE XIV. — *Figure 1.* — Parasites dans un frottis fait avec le liquide de ponction de la rate chez un enfant. A, cellule de la rate et mononucléaire avec parasites; B, parasites libres; C, parasites dans une gangue.

*Figure 2.* — Coupe de foie d'enfant montrant des parasites dans les cellules endothéliales. En A, où le vaisseau est coupé longitudinalement, on voit deux cellules parasitées et 2 cellules voisines normales. En B (coupe transversale d'un vaisseau), une cellule endothéliale bourrée de parasites obture presque complètement la lumière.

*Figure 3.* — Fragment d'un frottis de la rate d'un chien infecté.

*Figure 4.* — Cellule parasitée du foie du même chien.

PLANCHE XV. — *Figure 5.* — Fragment d'un frottis de la moelle des os d'un chien infecté.

*Figures 6 à 19.* — Formes des cultures.

*Figures 6 à 17.* — Eléments isolés.

*Figures 13 à 17.* — Stades de la division longitudinale.

*Figures 18 et 19.* — Rosaces.

---

# Action du ferment bulgare sur les principaux sucres

PAR MM. GABRIEL BERTRAND ET F. DUCHACEK

---

Lorsque le ferment du « yoghourt » ou lait caillé de Bulgarie est ensemencé à l'état pur dans du lait de vache stérilisé maintenu à l'étuve, il se développe très rapidement et fait disparaître, en quelques jours, la presque totalité du lactose.

Voici, d'après les recherches publiées par l'un de nous en collaboration avec G. Weisweiler (1) comment a lieu cette disparition.

Sous l'influence d'une diastase non encore isolée, mais dont l'action est très manifeste, le lactose subit d'abord un dédoublement hydrolytique. Du glucose et du galactose prennent naissance, qui sont ensuite transformés en un mélange d'acide lactique gauche et d'acide lactique droit, mélange dans lequel le dernier acide prédomine.

A côté de ces acides lactiques, dont la quantité peut atteindre le chiffre relativement considérable de 25 grammes par litre, il apparaît un peu d'acide succinique, environ un 1/2 gramme, à peu près autant d'acide acétique, enfin, de très petites quantités d'acide formique.

On ne trouve pas, comme cela arrive quelquefois avec d'autres microbes, d'alcool, d'acétone, d'acétylméthylcarbinol, ni de butylèneglycol.

Le ferment bulgare se caractérise donc, au point de vue biochimique, par une grande puissance de fermentation, par la simplicité relative des transformations qu'il fait subir au lactose, par la prédominance surtout, parmi ces transformations, de celle qui correspond à la production des acides lactiques. On peut le considérer, par suite, comme un type extrêmement favo-

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XX, p. 977-990 (1906) et *Ann. der Chemie*, t. CCCLI, p. 486-503 (1906).

nable à l'étude de la fermentation lactique, c'est-à-dire d'un mode très important, de destruction naturelle du sucre observé à la fois chez beaucoup d'espèces microbiennes et chez un grand nombre d'animaux de toutes sortes.

On ne peut donner actuellement de théorie vérifiable de la transformation du glucose ou d'un sucre analogue en acide lactique, soit par les cellules vivantes, soit même par les réactifs de laboratoire. On sait seulement que des sucres divers peuvent subir cette transformation; on n'a pas étudié les rapports qui existent entre la constitution ou la structure stéréochimique de ces sucres et la facilité avec laquelle ils donnent de l'acide lactique ou telle espèce d'acide lactique. C'est seulement quand on connaîtra ces rapports et, après, la série des produits intermédiaires de transformation, qu'il sera possible de se faire une idée exacte du processus de glycolyse que les ferments lactiques exercent avec une si remarquable netteté, pour satisfaire à leurs besoins d'énergie.

Nous avons pensé qu'une étude comparative de l'action du ferment bulgare sur les principaux représentants du groupe des sucres apporterait, parmi d'autres résultats, une contribution utile à la connaissance de la fermentation lactique. Les expériences que nous avons effectuées dans cette direction font l'objet du présent mémoire.

### *Choix du milieu de culture.*

Le plan du travail étant de faire agir le microbe sur une série de sucres, introduits séparément dans un liquide nutritif, et d'examiner ensuite les transformations accomplies, il ne fallait pas songer à se servir du lait comme milieu de culture, à cause de la grande quantité de lactose qu'il renferme et qu'il est pratiquement impossible de séparer. On ne pouvait prendre non plus aucun milieu, naturel ou artificiel, contenant un sucre quelconque, du moins en quantité appréciable (1).

Nous avons donc cherché tout d'abord un milieu nutritif non sucré. Après plusieurs essais, nous avons fini par en trouver un excellent, qui convient à la bactérie presque aussi bien que le lait. Nous le recommandons vivement pour les recherches sur le

(1) Par exemple le milieu préconisé par M. Cohendy.



ferment bulgare et pour la fabrication de cultures destinées aux usages thérapeutiques.

Ce milieu est formé d'une décoction de touraillons, préparée en faisant bouillir 30 grammes de germes d'orge desséchés (1) pendant un quart d'heure dans un litre d'eau (2), à laquelle on ajoute 1 0/0 de peptone Chapoteau et 3 0/0 de carbonate de calcium précipité. Lorsqu'on dissout dans ce liquide de deux à 4 0/0 de lactose ou de l'un des sucres fermentescibles indiqués dans la suite, on obtient un milieu de culture dans lequel la bactérie se développe très rapidement et conserve en outre toute son activité biochimique. Nous insistons sur ce dernier point, très important, car il y a des milieux dans lesquels le microbe se développe très bien, si on en juge par l'aspect extérieur de la culture et même par l'examen microscopique, mais qui se révèlent toutefois insuffisants si on suit la fermentation par l'analyse chimique. C'est avec le milieu dont nous venons de donner la composition que nous avons effectué nos recherches.

A titre documentaire, voici toutefois, rangés à peu près par ordre décroissant de valeur nutritive, les milieux que nous avons essayés, y compris le lait, choisi comme terme de comparaison :

*Excellents* : le lait additionné de carbonate de calcium ;

Le lait seul ;

Le milieu décrit plus haut ;

L'extract (ou plutôt le moût) de malt, d'après Cohendy, additionné de peptone Chapoteau, de carbonate calcium et de lactose (3).

*Assez bons* : la décoction de levure (4), additionnée de peptone, de carbonate de calcium et de lactose ;

La décoction de lentilles (5) additionnée des mêmes substances ;

Le sérum de lait (6) additionné de carbonate de calcium ;

Le moût de malt, additionné seulement de carbonate de calcium.

(1) On se procure ces touraillons dans les malteries.

(2) D'où résulte la dissolution d'environ 12 grammes de matières minérales et organiques.

(3) Sans peptone, ce milieu est un peu moins favorable.

(4) A 0,5 0/0 d'extract.

(5) Une partie de lentilles et cinq parties d'eau, un quart d'heure d'ébullition. Renferme 1,81 0/0 d'extract.

(6) Préparé d'après Cohendy (*C. R. Soc. biol.*, séance du 17 mars 1906).

*Mauvais* : les décoctions de touraillons, de levure ou de lentilles, additionnées de peptone et de lactose, sans carbonate de calcium ;

Le sérum de lait, même additionné de peptone, mais sans carbonate de calcium ;

Les décoctions d'oignons (1) ou de haricots (2) additionnées de peptone, de lactose et de carbonate de calcium ;

L'urine, également additionnée de peptone, de lactose et de carbonate de calcium.

L'examen microscopique des cultures réalisées avec tous les milieux montre que la longueur de la bactérie est plus petite et son diamètre plus étroit dans un milieu médiocre que dans un bon milieu ; la réduction de longueur peut atteindre la moitié. De plus, quand on traite les microbes par la méthode de Gram, ceux qui sont mal développés se comportent comme les vieux microbes, ils se colorent mal ou ne se colorent pas.

#### *Action du ferment sur les sucres réducteurs non hydrolysables.*

Les sucres examinés appartiennent aux trois groupes fondamentaux des sucres réducteurs non hydrolysables ou glucoses, des sucres hydrolysables ou saccharoses et des sucres purement alcooliques ou mannites.

Parmi les sucres du premier groupe, nous avons essayé successivement deux pentoses  $C^5H^{10}O^5$  : l'arabinose et le xylose, et cinq hexoses  $C^6H^{12}O^6$  : le glucose, le mannose, le galactose, le lévulose et le sorbose. Les pentoses et les trois premiers hexoses sont à fonction aldéhydique :  $CH^2OH-(CH.OH)^n-COH$ , les deux derniers sont à fonction cétonique :  $CH^2OH-(CH.OH)^n-CO-CH^2OH$ .

Ces sucres, tout à fait purs, ont été introduits, lors d'une première série d'essais, à la dose de 2 à 4 0/0, dans 10 centimètres cubes de milieu nutritif. On a préparé plusieurs tubes exactement semblables, en pesant chaque fois le sucre et le carbonate de calcium ; après stérilisation d'un quart d'heure à 120°, on a commencé avec une culture très active et cultivé à 32°.

Pour rechercher, après un temps convenable de séjour à

(1) 100 grammes d'oignons et 400 grammes d'eau ; une demi-heure d'ébullition.

(2) Comme pour les lentilles (1,51 0/0 d'extrait).

L'étuve, si le sucre avait ou non fermenté, on filtrait le contenu d'un tube et, après avoir lavé le précipité, on dosait, d'une part, le carbonate de calcium insoluble, d'autre part le sucre réducteur restant dans le liquide (1). Quand il y avait fermentation, la quantité de carbonate de calcium dissoute par l'acide lactique correspondait théoriquement à la quantité de sucre réducteur disparue. Quand, au contraire, il n'y avait pas de fermentation, on retrouvait à la fois la totalité du sel calcaire et du sucre réducteur introduits dans le liquide.

La première série d'essais a montré que parmi les sucres énumérés :

L'arabinose, le xylose et le sorbose étaient infermentescibles.

On a trouvé, en effet, avec l'arabinose :

	Sucre.	CaCo <sup>3</sup> .
Dans le tube témoin .....	178 milligr.	284 milligr.
Après 2 jours de culture .....	176 —	286 —
— 10 jours de culture .....	178 —	288 —

Avec le xylose :

	Sucre.	CaCo <sup>3</sup> .
Dans le tube témoin .....	179 milligr.	289 milligr.
Après 2 jours de culture .....	179 —	287 —
— 10 jours de culture .....	174 —	284 —

Et avec le sorbose :

	Sucre.	CaCo <sup>3</sup> .
Dans le tube témoin .....	183 milligr.	285 milligr.
Après 2 jours de culture .....	185 —	283 —
— 10 jours de culture .....	179 —	282 —

Au contraire : le glucose (en solution à 4 0/0)

le mannose	—	—
le galactose	—	—
le lévulose	—	—

ont disparu facilement et ont été transformés en acides. De ces quatre sucres, ce sont le glucose et le galactose, c'est-à-dire ceux qui dérivent de l'hydrolyse du lactose contenu dans le lait, qui fermentent le plus rapidement (en quatre jours); le mannose disparaît (2) environ moitié moins vite (en 9 jours); le lévulose résiste beaucoup plus longtemps à l'action du microbe (il en restait encore un quart après un mois et demi). Ces premiers points acquis, nous avons examiné en détail l'action du ferment bulgare sur les quatre sucres fermentescibles en opérant sur une assez

(1) On titrait aussi, s'il y avait lieu, l'acidité de ce liquide.

(2) A condition d'ensemencer largement; sinon, il n'y a pas de culture ou du moins la culture se développe lentement.



grande quantité de substances pour effectuer la séparation et la détermination spécifique des divers produits de la fermentation. Avec le glucose, le galactose et le lévulose cristallisés nous avons pris 600 c. c. de décoction de touraillons, 6 grammes de peptone, 10 grammes de carbonate de calcium, et 20 grammes de sucre. Avec le mannose cristallisé, nous n'avons opéré, par raison d'économie, que sur le tiers des doses ci-dessus. La stérilisation, entre 115 et 120°, a duré un quart d'heure. Les cultures ont été soumises à l'analyse chimique après 9 jours pour le glucose et le mannose, après 16 jours pour le galactose et après 18 jours pour le lévulose.

Voici d'après quelle méthode nous avons procédé à l'analyse.

La culture est chauffée au bain-marie, puis additionnée d'acide oxalique, en quantité aussi exacte que possible pour précipiter le calcium dissous. On filtre, on lave le précipité et on concentre le liquide dans le vide à consistance de sirop : le liquide distillé renferme les produits volatils et le sirop les produits fixes.

*Examen des produits volatils.* On sature le liquide distillé avec de l'eau de baryte filtrée. On trouve, calculé en acide acétique :

Avec le glucose .....	0 <sup>sr</sup> ,277
— le galactose .....	0 <sup>sr</sup> ,220
— le lévulose .....	0 <sup>sr</sup> ,220
— le mannose .....	0 <sup>sr</sup> ,117

La solution des sels barytiques est amenée, par concentration dans le vide, à 25 c. c. On prélève 5 c. c. que l'on traite par le nitrate d'argent; on fait bouillir pour détruire le formiate; on sépare l'argent réduit par filtration et l'on concentre. L'acétate cristallise; on l'identifie en le transformant en acétate d'éthyle.

Les 20 autres c. c. de solution barytique sont concentrés à 1 c. c.; on ajoute quelques gouttes d'acétate neutre de plomb en solution saturée et on abandonne le mélange jusqu'au lendemain. On recueille alors les cristaux de formiate de plomb. Il y en avait :

Avec le glucose .....	0 <sup>sr</sup> ,035 correspondant à 0 <sup>sr</sup> ,011 d'acide formique.
— le galactose .....	0 <sup>sr</sup> ,046 — à 0 <sup>sr</sup> ,014 —
— le lévulose .....	0 <sup>sr</sup> ,022 — à 0 <sup>sr</sup> ,007 —
— le mannose .....	quelques milligrammes seulement.

On n'a pas trouvé d'autres produits volatils que l'acide acé-

tique et l'acide formique. A cet égard, la fermentation s'est donc accomplie comme celle du lait.

*Examen des produits fixes.* Le sirop, fortement acide, est épuisé par une demi-douzaine d'agitations avec 250 c. c. d'éther chaque fois. On filtre les liquides éthérés et on les distille. Le résidu de la distillation est redissous dans l'eau et additionné de baryte en petit excès. Après quelque temps de repos, on sature l'excès de baryte par le gaz carbonique; on fait bouillir dans le vide pour décomposer le bicarbonate; on filtre; on précipite par le sulfate de zinc à 10 0/0 en quantité juste suffisante. Enfin on filtre le sulfate de baryum et on distille dans le vide la solution des sels de zinc.

On arrête la distillation à :

100 c. c. environ pour le glucose.	
110 — — — galactose.	
95 — — — lévulose.	
20 — — — mannose	

Après 24 heures, on essore les cristaux; on les lave avec un peu d'eau (2 fois 5 c. c. environ). On concentre l'eau-mère à 10 c. c. environ et l'on recueille une seconde cristallisation. On obtient ainsi après dessiccation à  $+ 30^{\circ}$ .

	Avec le glucose.	Avec le galactose	Avec le lévulose (1).	Avec le mannose.
1 <sup>re</sup> cristallisation....	20 <sup>sr</sup> ,38	11,61	9,87	4,23
2 <sup>e</sup> cristallisation....	4 <sup>sr</sup> ,74	6,23	1,26	1,07

Les cristaux de première et de seconde cristallisation sont formés, avec les quatre sortes de sucres, par du lactate de zinc racémique. En solution aqueuse presque saturée, sous une épaisseur de 50 centimètres, on n'a observé aucune déviation au polarimètre. D'autre part, le dosage de l'eau à  $(+ 105^{\circ})$  et celui de l'oxyde de zinc (par calcination) ont donné :

		Glucose.	Galactose.	Lévulose.	Mannose.
Eau 0/0	1 <sup>re</sup> crist .....	18,20	18,20	18,08	18,16
	2 <sup>e</sup> crist .....	17,66	17,80	17,20	17,96
ZnO 0/0	1 <sup>re</sup> crist .....	22,05	22,03	22,08	21,99
	2 <sup>e</sup> crist .....	22,22	22,02	22,10	22,01

Les teneurs en eau et en oxyde de zinc sont :

	Eau 0/0.	ZnO 0/0.
Pour le lactate racémique.....	18,18	et 21,89
Pour les lactates actifs.....	12,90	et 23,30

(1) Le lévulose n'avait pas complètement fermenté; il restait 5<sup>sr</sup>,2 d'après le pouvoir réducteur.

Dans les eaux-mères du lactate de zinc se trouve une certaine quantité de succinate. Pour s'en assurer, on ajoute à ces eaux-mères un peu d'acide sulfurique et on les épuise par l'éther (4 fois cinquante c. c.). L'éther s'empare à nouveau de l'acide succinique et d'un reste d'acide lactique. On évapore le dissolvant et on abandonne le résidu sirupeux à la cristallisation. Après un ou deux jours, on sépare les cristaux, on les essore sur du papier à filtrer; enfin, après les avoir lavés avec un peu d'éther, on les recristallise dans un ou deux centimètres cubes d'eau. Le poids d'acide succinique ainsi obtenu a été

Avec le glucose .....	de 0 <sup>sr</sup> ,049
— le galactose .....	de 0 <sup>sr</sup> ,059
— le lévulose .....	de 0 <sup>sr</sup> ,108
— le mannose.....	de 0 <sup>sr</sup> ,069

On a contrôlé la pureté des cristaux d'acide succinique en prenant le point de fusion : 187-188°, en déterminant le poids moléculaire par titrage avec la soude décimorale, ce qui a donné :

Avec l'acide du glucose .....	118,5	} Calculé pour $C^2H^2(CO^2H)^2$ 118
— — du galactose .....	119,7	
— — du lévulose .....	118,6	
— — du mannose .....	119,3	

Enfin, on a vérifié que la solution sodique neutre donnait, avec le perchlorure de fer, un précipité volumineux de succinate ferrique.

L'examen des produits fixes de la fermentation lactique des hexoses en milieu artificiel montre donc, en résumé, qu'il y a production : 1° d'acides lactiques droit et gauche, en quantités rigoureusement égales; 2° d'un peu d'acide succinique. Qualitativement, ce sont les mêmes produits que dans la fermentation du lait; quantitativement, il y a une petite différence : dans le milieu naturel, l'acide lactique droit est plus abondant que l'acide gauche, au lieu d'obtenir un sel de zinc racémique, inactif sur le plan de la lumière polarisé, on a un sel à pouvoir rotatoire assez fortement lévogyre (1). A quoi peut tenir cette différence? *A priori*, ce ne doit pas être au sucre, puisque, dans le lait, le lactose est d'abord dédoublé par le ferment bulgare en un mélange de glucose et de galactose; ce doit donc être plutôt au milieu. L'étude de la fermentation des sucres hydroly-

(1) On se souvient que le sel de zinc possède un pouvoir rotatoire de sens opposé à celui de l'acide.



sables dissous dans l'extrait de touraillons peptoné va permettre d'élucider ce point.

*Action du ferment sur les sucres hydrolysables.*

Les sucres hydrolysables, appelés aussi saccharoses ou mieux encore saccharides, appartiennent à deux types bien différents, selon qu'ils renferment ou non une fonction aldéhyde libre : le type des sucres hydrolysables réducteurs, comme le lactose et le maltose, et celui des sucres hydrolysables non réducteurs, comme le sucre ordinaire ou saccharose proprement dit.

Nous avons étudié comparativement le lactose, le maltose et le saccharose.

De ces trois sucres, seul le lactose est fermentescible, les deux autres résistent complètement à l'action du ferment bulgare, ainsi qu'il résulte des expériences suivantes.

*Saccharose.* — On a fait deux séries d'expériences. Dans la première, chaque tube contenait 10 c. c. d'eau de touraillons, 1 0/0 de peptone, 3 0/0 de carbonate de calcium et 4 0/0 de sucre.

Dans la seconde série, on a remplacé l'eau de touraillons par de l'eau de levure.

La stérilisation et la culture ont été faites dans les mêmes conditions que pour les autres sucres.

Après le séjour à l'étuve, on a filtré la culture et lavé le précipité. Celui-ci a été titré ensuite par l'acide chlorhydrique pour savoir combien il contenait encore de carbonate de calcium. On a retrouvé la totalité du sel. Le liquide, qui n'était pas devenu acide, a été dilué à 50 c. c.; on a essayé son pouvoir réducteur: il en était complètement dépourvu. On en a prélevé alors 20 c. c. qu'on a chauffé au bain-marie bouillant après addition d'un c. c. d'acide chlorhydrique concentré, pour hydrolyser le sucre. Après refroidissement, neutralisation, dilution à 55 c. c., on a dosé le pouvoir réducteur sur 15 c. c. On a trouvé finalement :

1 <sup>re</sup> série d'essais.		
	Carbonate de Ca.	Sucre interverti.
Témoin (après 7 jours).....	0gr,285	0gr,429
Culture de 40 heures.....	0gr,284	0gr,427
— de 7 jours.....	0gr,287	0gr,427
2 <sup>e</sup> série.		
Témoin (3 jours).....	0gr,286	0gr,406
Culture de 40 jours.....	0gr,283.	0gr,402.
— de 7 jours.....	0gr,287	0gr,407

*Maltose.* — On a opéré comme pour le saccharose, mais

seulement avec 2 0/0 de sucre dissous et le milieu habituel. L'analyse du tube témoin et des cultures a été effectuée comme pour le saccharose.

Les résultats ont été les suivants :

	Carbonate de Ca.	Maltose avant hydrolyse	Augmentation de pouvoir réducteur.
Témoin (10 jours).....	0 <sup>gr</sup> ,286	0 <sup>gr</sup> ,195	65 0/0
Culture de deux jours.....	0 <sup>gr</sup> ,287	0 <sup>gr</sup> ,193	—
— de 10 jours.....	0 <sup>gr</sup> ,284	0 <sup>gr</sup> ,199	66,8 0/0

*Lactose.* — Les expériences avec le lactose démontrent au contraire la disparition rapide et complète de la matière sucrée et la production correspondante d'acides. Ceux-ci comprennent, comme dans le lait, les acides formique, acétique et succinique en petites quantités et beaucoup d'acides lactiques, droit et gauche, mais le mélange des acides lactiques est ici rigoureusement racémique, au lieu de comporter un excès d'acide droit.

En opérant comme avec les hexoses, on a obtenu, avec 30 grammes de lactose en solution dans 750 c. c. d'extrait de touraillon peptoné et additionné de carbonate de calcium :

1 gr. 20 d'acides volatils (acétique et formique) calculés en acide acétique;

0 gr. 39 d'acide succinique cristallisé, et deux portions de lactate de zinc, pesant : la première 28 gr. 94, et la seconde : 4 gr. 85.

En solution aqueuse à 2 0/0, sous une épaisseur de 50 centimètres, on n'a obtenu aucune déviation polarimétrique ni avec la première, ni avec la seconde portion du sel de zinc. En outre, l'analyse du sel concorde exactement avec celle du lactate racémique :

	1 <sup>re</sup> cristallisation.	2 <sup>e</sup> cristallisation.
Eau (à + 110°).....	18,20	18,22
Zn O (par calcination).....	21,90	21,87

Il est probable que le microbe produit, dans le lait et dans le milieu artificiel, tout d'abord de l'acide droit et de l'acide gauche en quantités rigoureusement égales, et cela, quelle que soit l'espèce de sucre fermentescible mis à sa disposition; seulement, dans le lait, pour des causes qu'il n'est pas encore possible de définir, une partie de l'acide lactique gauche serait utilisée de préférence à l'acide droit, de sorte qu'au moment où l'on examine le mélange on trouverait un excès relatif de ce dernier.

Il est curieux de voir que le ferment bulgare, si actif destructeur de lactose, ne peut utiliser ni le saccharose ni le maltose (1), qu'il ne secrète par conséquent ni sucrase, ni maltase. La netteté de ce caractère est si grande que l'on peut, dans un milieu maltosé et glucosé, détruire tout le glucose avec le ferment bulgare sans toucher au maltose, ou bien encore, que l'on peut faire disparaître seulement le lactose dans un milieu renfermant à la fois ce sucre et du maltose.

Ayant ensemencé le ferment bulgare dans du moût de malt, en présence de carbonate de calcium, nous avons obtenu un développement très appréciable du microbe; mais, quand, après 9 jours de culture, nous avons analysé le liquide, nous avons trouvé qu'une petite proportion seulement du sucre avait disparu. A l'origine, la totalité du sucre réducteur (maltose et glucose) correspondait à 658 milligrammes de cuivre précipité. La proportion disparue, représentée par 136 milligrammes de cuivre précipité, équivalait à 68 milligrammes de glucose. L'acide produit en même temps était de 69 milligrammes, calculé en acide lactique.

Il est donc probable que le microbe avait uniquement consommé la petite quantité de glucose présente; qu'il n'avait pu se servir du maltose. En ajoutant du sucre de lait au moût précédent, nous avons obtenu, d'autre part, une culture florissante, accompagnée de la disparition du lactose et de sa transformation en acide lactique, expérience démontrant que le moût de malt ne renfermait pas de substance défavorable à l'activité biochimique du microbe.

#### *Action du ferment sur la mannite.*

Le dernier des groupes de sucres sur lesquels nous ayons examiné l'action du ferment bulgare, celui des sucres purement alcooliques, est représenté dans nos expériences par la mannite.

On a ajouté 40/0 de matière sucrée à chacun des tubes de culture, renfermant 10 c. c. d'extrait de touraillon peptoné et 0 gr. 3 de carbonate de calcium.

(1) Contrairement à ce qui a été admis par plusieurs bactériologistes dont les expériences n'ont pas été publiées avec assez de détails pour qu'on puisse expliquer la raison de cette divergence.



Il ne s'est pas formé d'acide lactique et l'on a retrouvé exactement, à la fin de l'expérience, la même quantité de mannite, que dans le tube témoin.

Pour doser la mannite, on a évaporé au bain-marie le liquide de culture filtré, à consistance de sirop, extrait le sirop par l'alcool bouillant (4 fois 10 à 15 c. c. d'alcool à 95 0/0), et, après refroidissement des liqueurs alcooliques réunies, on a filtré, lavé le filtre à l'alcool; enfin, on a évaporé au bain-marie et pesé le résidu cristallin, formé à peu près exclusivement par de la mannite. On a obtenu :

Avec le tube témoin.....	0 <sup>gr</sup> ,36
— le liquide de culture.....	0 <sup>gr</sup> ,36

Ainsi, le ferment bulgare ne transforme pas la mannite en acide lactique.

#### RÉSUMÉ.

Le ferment bulgare ne se cultive pas facilement, sans perdre ses propriétés biochimiques, en dehors du lait. Il est toutefois possible de trouver un milieu artificiel capable de remplacer le lait, soit pour les expériences de laboratoire, soit pour les applications thérapeutiques.

En faisant varier la nature du sucre introduit dans ce milieu on constate : 1<sup>o</sup> que parmi les sucres réducteurs non hydrolysables, le glucose, le mannose, la galactose et le fructose (lévulose) sont fermentescibles, tandis que l'arabinose, le xylose et le sorbose ne le sont pas; 2<sup>o</sup> que parmi les sucres hydrolysables, le lactose seul est fermentescible, le saccharose et le maltose résistent; 3<sup>o</sup> enfin, que la mannite n'est pas transformée en acide lactique.

Les produits de transformation sont les mêmes avec toutes les espèces de sucres fermentescibles; on y trouve, à côté d'une grande quantité d'acides lactiques, droit et gauche, une très petite proportion d'acides volatils, formique et acétique, et d'un acide fixe, l'acide succinique. A ce point de vue, les fermentations en milieu artificiel rappellent tout à fait celles du lait.

Il apparaît toutefois une différence, d'ordre quantitatif, quand on examine les proportions des acides lactiques : dans le cas des fermentations artificielles, il y a exactement autant d'acide droit que d'acide gauche et le mélange acide reste sans

action sur le plan de la lumière polarisée; dans le cas du lait, il y a, au contraire, un peu moins d'acide gauche et le mélange extrait de la culture est dextrogyre.

Il est probable qu'au début des cultures, l'action biochimique du microbe sur les sucres fermentescibles est absolument comparable à celle qu'exerceraient sur eux certains réactifs chimiques, tels que les alcalis : les sucres sont transformés en un mélange à parties rigoureusement égales d'acide droit et d'acide gauche. Seulement, tandis que ce mélange subsiste dans le milieu artificiel, une partie de l'acide gauche, — ou bien des deux acides à la fois, mais alors du gauche plus vite que du droit, — disparaît dans le milieu naturel. Le microbe trouve peut-être, dans l'extrait de touraillon peptoné, une substance plus nutritive que l'acide lactique; après avoir profité de l'énergie mise en liberté dans la décomposition du sucre, il utiliserait cette substance de préférence à l'acide organique.

Au point de vue des diastases saccharolytiques, on peut ajouter, enfin, que le ferment bulgare ne produit ni sucrase, ni maltase, de sorte qu'il ne peut s'attaquer ni au saccharose, ni au maltose; il produit seulement de la lactase, sous la forme endocellulaire.

---

# L'ENDOTOXINE COQUELUCHEUSE

PAR LES D<sup>rs</sup> BORDET ET O. GENGOU

(Institut Pasteur de Bruxelles)

---

Dans deux articles antérieurs (1), nous avons rapporté nos recherches sur l'étiologie de la coqueluche et décrit le microbe que nous considérons comme l'agent de cette affection. Nous avons indiqué, avec assez de détails, les faits qui justifient cette assertion, pour qu'il ne soit pas nécessaire d'y revenir ici. Nous nous proposons de signaler dans cette note certaines constatations nouvelles, relatives à l'action pathogène de notre microbe.

Ainsi qu'on le sait, l'injection de petites quantités de bacilles coquelucheux soit dans le péritoine de cobayes, soit dans les veines du lapin, est mortelle. Cependant, les microbes injectés ne se multiplient pas; il ne s'agit donc pas d'infection et tout se passe comme si la mort était due à une intoxication. Nous avons cherché à appuyer expérimentalement cette hypothèse; nous nous sommes naturellement adressés tout d'abord aux milieux liquides, dans l'espoir d'y obtenir une toxine soluble. Le bacille coquelucheux donne en effet de bonnes cultures dans un milieu constitué en parties égales de sang défibriné de lapin ou de cheval et de bouillon glycérimé à 10/0. Mais si, après quelques jours, on sépare par centrifugation les microbes du milieu de culture et qu'on injecte dans le péritoine d'un cobaye le liquide ainsi obtenu, on ne reproduit pas les phénomènes qui suivent l'inoculation d'une quantité, même minime, de microbes coquelucheux obtenus sur milieu solide.

La toxine coquelucheuse ne pouvant par conséquent être obtenue par la méthode couramment employée pour la fabrication des toxines solubles, nous avons cherché à extraire le poison du microbe coquelucheux en utilisant la technique préconisée par Besredka, pour la préparation des endotoxines pesteuse, typhique et dysentérique. Etant donné que la qualité de l'endotoxine coquelucheuse dépend beaucoup de la composition du

(1) *Ces Annales*, 1906 et 1907.

milieu de culture, nous croyons utile d'indiquer ici la préparation de ce dernier. On fait tout d'abord un extrait glycéринé de pommes de terre, à raison de 1 partie de pommes de terre pour 2 parties d'eau glycéринée à 40/0, ainsi que du bouillon de viande de veau (une partie de viande pour 2 parties d'eau physiол. à 7,50/00. Le bouillon filtré sur linge et l'extrait sont additionnés de soude jusqu'à ce qu'ils soient très légèrement alcalins au papier de tournesol. Ensuite, à un volume d'extrait, on ajoute 2 volumes du bouillon de viande et un volume d'eau physiologique à 7,50/00. On incorpore à ce milieu 30/0 de gélose et on le distribue, à raison de 10 c. c. par tube, dans de grands tubes de 30 centimètres de longueur sur 2 cent. 5 de diamètre. Enfin, ces blocs gélosés étant fondus, on y mélange *intimement* un volume égal de sang défibriné de cheval, et le milieu est incliné comme le sont les tubes de gélose ordinaire, de façon à offrir une large surface à l'air.

Sur ce milieu, le microbe coquelucheux forme une couche assez épaisse; on enlève celle-ci après 3 jours au moyen d'une baguette stérile en verre et on délaie dans 20 c. c. d'eau contenant 60/00 NaCl les microbes fournis par 15 tubes de culture. L'émulsion ainsi obtenue est desséchée pendant 3 jours à 37° dans le vide, en présence de potasse caustique. Le résidu est broyé, puis additionné de 330 milligrammes de NaCl sec et stérile et trituré avec ce sel, de façon à obtenir une poudre (630 milligrammes environ pour 15 cultures) aussi fine et aussi homogène que possible. Cette poudre peut être conservée sèche assez longtemps, tout en gardant ses propriétés. Elle est ensuite broyée dans 60 c. c. d'eau distillée stérile, additionnée par petites portions. On obtient ainsi un liquide louche, salé à 7,50/00; il s'y produit assez souvent des flocons, comme dans d'autres endotoxines, ainsi que Besredka l'a remarqué. On laisse le tout 24 heures à froid, puis on centrifuge: on décante le liquide surnageant qui est presque limpide, très légèrement opalescent.

Injecté à la dose de 1/4 à 1/2 c. c. dans le péritoine d'un cobaye, ce liquide détermine la mort de l'animal, généralement en 24 heures. A l'autopsie, on trouve des lésions identiques à celles que produit l'injection intrapéritonéale de microbes coquelucheux: exsudation péritonéale très abondante, hémorragique, pétéchies sous-péritonéales très nombreuses, surtout sous le



péritoine pariétal, congestion très intense de l'intestin et épanchement pleural copieux. Du reste, l'animal présente, quelques heures avant de mourir, une dyspnée des plus intense.

Les mêmes phénomènes s'observent lors de l'injection intrapéritonéale chez le lapin. L'injection d'endotoxine dans les veines du lapin — 1 à 2 c. c. — tue aussi l'animal très rapidement (18 heures environ). L'autopsie montre de la congestion hépatique et rénale, ainsi que des foyers hémorragiques dans les capsules surrénales.

A l'examen microscopique, les cellules du foie présentent peu d'altérations. On observe, dans cet organe, de la congestion et de petites hémorragies; dans le tissu conjonctif, certaines cellules criblées de pigment, peut-être d'origine hématique. Le même pigment se rencontre en grande abondance dans les cellules des capsules surrénales; ces organes montrent en outre des granules graisseux dans la partie corticale et de grosses hémorragies dans la partie centrale. Les reins ne nous ont pas paru altérés en ce qui concerne la structure de l'épithélium et des glomérules de Malpighi. Mais on trouve dans les tubes urinaires de très nombreux cylindres hyalins et granulo-graisseux, et, entre ces tubes, de la réplétion vasculaire.

Comme on le voit, il semble que l'action de l'endotoxine, introduite par la voie veineuse, porte principalement sur l'endothélium vasculaire, qui laisse filtrer les albumines du plasma ou le sang lui-même.

L'injection sous-cutanée d'endotoxine coquelucheuse donne des renseignements peut-être plus intéressants. Pour tuer par cette voie un cobaye, il faut, il est vrai, de fortes quantités d'endotoxine; mais des doses faibles (0,2 c. c. par ex.) déterminent déjà des lésions locales graves. On voit, dès le lendemain, apparaître un œdème hémorragique, qui s'accroît encore le jour suivant, puis cet œdème s'affaisse et fait place à une plaque noire étendue, qui se nécrose et tombe, laissant un vaste ulcère.

L'action de l'endotoxine coquelucheuse explique le fait que les inoculations de microbes coquelucheux chez le cobaye et le lapin occasionnent des troubles graves, voire mortels, sans pullulation microbienne ou même avec disparition presque totale des bactéries injectées. Tout porte donc à admettre que les lésions déterminées par le bacille coquelucheux sont dues à un poison

mis en liberté chez l'animal par le parasite, peut-être lors de la destruction de celui-ci. Il est aussi logique de penser que des lésions de même ordre que celles que nous avons observées chez les animaux de laboratoire, se produisent également chez l'enfant atteint de coqueluche. Les résultats de l'inoculation sous-cutanée d'endotoxine au cobaye sont spécialement instructifs à ce point de vue; il est probable que la trachée et les bronches de l'enfant atteint sont lésées par le poison coquelucheux, qui en nécrose le revêtement épithélial, comme il nécrose la peau du cobaye. D'ailleurs, Leonardo Dominici (1) a signalé, il y a quelque temps, des lésions observées à l'autopsie d'enfants morts de coqueluche et n'ayant pas présenté de complications. Cet auteur a vu, à la période catarrhale, de l'inflammation de la muqueuse laryngée, spécialement dans la région sus-glottique et sur la partie supérieure de la région sous-glottique, pendant la période spasmodique, de l'inflammation nécrosante.

On s'expliquerait par là la persistance de la toux quinteuse chez l'enfant coquelucheux, à un moment où le microbe spécifique est difficile à retrouver sûrement par l'examen direct des frottis. Nous avons dit en effet antérieurement que ce parasite, extrêmement abondant au début de l'affection, se fait ensuite beaucoup plus rare alors que les quintes sont encore très caractéristiques. La lésion produite par le poison coquelucheux serait ainsi la cause principale de la durée si longue de la coqueluche.

Cette conception des faits explique aussi les effets insuffisants qu'a produits, jusqu'à présent, chez les enfants coquelucheux, le sérum d'un cheval injecté à maintes reprises de notre microbe. Parfois encourageants, les résultats qu'a donnés ce sérum ont été en général peu satisfaisants. Il va de soi que le sérum a toujours été administré quand l'affection était bien caractérisée, c'est-à-dire lorsque les lésions dues au poison coquelucheux étaient vraisemblablement déjà produites et la pullulation microbienne en décroissance; il est donc possible que son action microbienne, si elle existe vraiment, n'ait pas eu l'occasion de se manifester. Peut-être un tel sérum, injecté préventivement à des enfants se trouvant en contact avec des coquelucheux, serait-il efficace. Nous devons cependant faire remarquer que le sérum d'un cheval vacciné par des injections répétées de bacilles ne

(1) *Riv. di Cli-Pediatria*, nov. 1907.

neutralise pas le poison coquelucheux. Le sérum trouble fortement l'endotoxine, mais l'injection du mélange dans le péritoine d'un cobaye tue ce dernier en produisant les mêmes lésions que l'endotoxine pure.

Au surplus, la vaccination des animaux contre l'endotoxine coquelucheuse est très difficile. Des cobayes, qui ont reçu une première fois une dose faible (0,2 c. c.) d'endotoxine sous la peau et qui se sont guéris de l'ulcère ainsi produit, réagissent aux injections ultérieures comme à la première, même si on n'élève pas la dose d'endotoxine.

D'autre part, le poison altéré par des agents tels que la chaleur ne produit plus de lésions chez l'animal, mais ne le vaccine pas contre l'endotoxine active.

Celle-ci est très sensible aux agents employés habituellement pour tuer les microbes contenus dans un liquide que l'on veut conserver stérile sans le soumettre à de hautes températures. Elle est en effet très affaiblie par un chauffage d'une demi-heure à 55°; le chloroforme, le toluol, le thymol, à plus forte raison l'alcool, lui enlèvent presque toute son activité. De plus, les bougies Chamberland en retiennent la majeure partie. Aussi, pour conserver autant que possible ce poison si fragile, doit-on le garder sec, c'est-à-dire sous forme de poudre résultant du mélange de NaCl stérile aux microbes coquelucheux préalablement déshydratés. On n'ajoute l'eau distillée nécessaire à l'obtention des solutions d'endotoxine qu'au moment où l'on désire utiliser le poison.

---

# Contribution à l'étude de la lymphangite épizootique des équidés au Sénégal.

PAR MM.

A. THIROUX

ET

L. TEPPAZ

Médecin-major de 1<sup>re</sup> classe des  
troupes coloniales, directeur du  
laboratoire de bactériologie de  
Saint-Louis.

Vétérinaire en second hors  
cadres détaché au service  
de l'agriculture du Sénégal.

(Travail du laboratoire de bactériologie de Saint-Louis.)

En 1873, Rivolta signale dans le pus des tumeurs non ouvertes et des cordes lymphatiques de la lymphangite épizootique, des corps qu'il nomme *cryptocoques*. En 1883, il publie avec Micellone (1) un important mémoire sur cette question. Bassi (2) et Nocard (3) retrouvent les mêmes corps. Canalis classe ces parasites dans le groupe des Coccidies, Piana et Galli-Valerio les rangent parmi les Sporozoaires, Fermi et Arusch parmi les Blastomycètes.

Depuis 1873 le parasite de la lymphangite infectieuse est effectivement connu. Le nom très impropre de *cryptococque* qui, à cette époque, a été donné à un parasite, 3 à 4 fois plus gros que les plus gros coccus connus et n'ayant aucun des caractères d'une bactérie, a contribué à créer un malentendu qui a duré jusqu'à nos jours. La présence du parasite dans les globules blancs avait été entrevue par Mazzanti (4), qui retrouve des *cryptocoques* libres ou *inclus dans des globules de pus*, dans des tumeurs suppurées du gros intestin d'une jument (lymphangite viscérale). La présence des parasites dans les cellules blanches fut alors interprétée comme un phénomène de phagocytose.

(1) RIVOLTA et MICELLONE, Del farcino cryptococchio (*Giorn. di. Anat. fis. et patol.*, 1883, p. 143).

(2) BASSI, Contribuzione alla monografia del farcino cryptococchio (*Il medico veter.*, 1883, p. 529).

(3) NOCARD, Sur le diagnostic de la lymphangite épizootique, *Bull. de la Société de Méd. vétér.*, 1891, p. 367.

(4) MAZZANTI, Farcino cryptococchio sulla mucosa del grossocolon in un puledro, *Il moderno zootatro* 1892, p. 193.



Avec Fermi et Arusch le parasite passe dans la classe des levures, ces auteurs prétendent cultiver le cryptocoque sur pomme de terre et l'opinion de Nocard tend à rendre classique cette manière de voir. « Le cryptocoque, dit cet auteur, se présente sous la forme d'un gros microcoque, légèrement ovoïde, mesurant 3 à 4  $\mu$  de diamètre, son contour est très nettement accusé par une double ligne très réfringente. Il se reproduit par bourgeonnement. Tous ces caractères rapprochent beaucoup le parasite des saccharomyces, il est cependant beaucoup plus petit que la levure de bière, il s'en distingue encore en ce qu'il ne fait pas fermenter les moûts sucrés (1). »

Plus récemment Gasperini (2) colore des frottis de pus lymphangitique par le Ziehl et observe des corps ovoïdes, encapsulés, qu'il considère comme les kystes d'un protozoaire, contenant un assez grand nombre de granulations. Ces granulations représenteraient des mérozoïtes ou des microgamètes.

Les méthodes perfectionnées de coloration des protozoaires, relativement récentes, n'avaient pas permis, jusqu'à ce jour, de se rendre compte de la véritable nature du parasite et les anciennes méthodes employées par Gasperini ne permettent pas, ainsi que nous le verrons plus loin, de se rendre un compte exact de sa morphologie. Au cours de l'année 1908, Ducloux (3) colore par la méthode de Giemsa, des frottis d'abcès lymphangitique et décrit un protozoaire, siégeant dans l'intérieur des leucocytes, qu'il nomme *leucocytozoaire piroplasmoides*. Aucun mémoire n'est encore venu confirmer l'importante découverte de Ducloux qui le premier range le parasite à sa véritable place; quelques auteurs tendent même à voir, dans les corps signalés par le savant directeur de l'élevage de la Tunisie, les levures autrefois immunisées par Fermi et Arusch. L'année dernière nous avons déjà entrevu la véritable nature de l'affection (4), mais le matériel nous avait subitement fait défaut; nous avons heureusement retrouvé un premier cas de lymphangite chez un cheval que nous avons traité

(1) NOCARD et LECLAINCHE, *Les maladies microbiennes des animaux*, p. 629, Paris, Masson, 1896, 1<sup>re</sup> édition.

(2) GASPERINI, Ulteriori ricerche sulla etiologia protozoaria della linfangite epizootica equina (*Acc. med. fisica Fiorentina*, 13 février 1908). La linfangite protozoaria ed il suo agente specifico (*lymphosporidium equi*), *Acc. med. fisica Fiorentina*, 14 mai 1908.

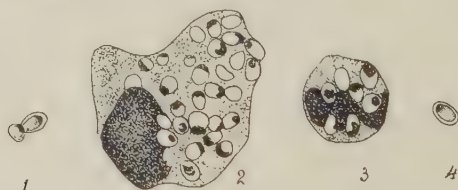
(3) E. DUCLOUX, Sur un protozoaire dans la lymphangite épizootique du mulet en Tunisie, *C. R. Soc. Biol.*, 4 avril 1908, p. 593.

(4) THIROUX et TEPPAZ, *C. R. Acad. des Sciences*, 30 novembre 1908.

et guéri, par l'orpiment et l'atoxyl, de la trypanosomiase des chevaux de Gambie (1) et ensuite 3 autres cas.

MORPHOLOGIE DE *Leucocytozoon piroplasmoides* (Ducloux).

Les frottis obtenus par ponction des tumeurs *non ouvertes* ont été colorés par la méthode de Laveran (coloration à l'étuve à paraffine 30 minutes, différenciation au tanin 10 minutes). On y retrouve, soit libres, soit contenus dans les leucocytes mono ou polynucléaires, ou dans les grands macrophages, de petits corps sphériques ou ovoïdes de 3  $\mu$  à 5  $\mu$  de diamètre (fig. 2, 3), semblables au parasite du bouton d'Orient de l'homme et n'en différant que parce qu'ils ne présentent qu'un gros karyosome et pas de petit micronucleus apparent. Le protoplasma du leucocyte a souvent subi la dégénérescence vacuolaire, ce qui fait qu'il semble perforé de trous d'où se seraient échappés d'autres parasites. Les leucocytes, bourrés de ces petits corps, éclatent, et l'on aperçoit souvent un noyau entouré de leucocytozoaires, mis en liberté par la rupture du protoplasma.



On peut voir aussi le double contour caractéristique de l'ancien cryptocoque (fig. 4), cependant il s'observe moins souvent sur les parasites endoleucocytaires, et on le retrouve surtout sur les parasites libres ou contenus dans des débris de leucocytes. Nous pensons que ce n'est qu'un artifice de préparation, dû à une dessiccation inégale. Le protozoaire, probablement plus épais, ne se desséchant qu'après que la couche albumineuse qui l'entoure est déjà sèche, se rétracte et s'en sépare. La dessiccation donne en outre, au parasite pseudo-encapsulé, une forme plus allongée qui correspond bien à ce que Gasperini a désigné sous le nom d'*aspect en petit citron*.

Il arrive fréquemment aussi que deux ou plusieurs parasites, expulsés d'un leucocyte, restent accolés et prennent la forme d'une levure en multiplication par bourgeonnement (fig. 1).

(1) THIROUX et ТЕРПАЗ, C. R. Acad. des Sciences, 12 octobre 1908.

La présence d'un karyosome net, et l'élection tinctoriale obtenue par le mélange éosine-bleu, ne permettent pas de conserver le moindre doute sur la nature de ce protozoaire. Sa morphologie et ses habitudes de parasitisme sont si voisines de celles de *Heliosoma tropicum* que nous serions tentés, malgré l'absence d'un micronucleus, de le ranger à côté, la lymphangite épizootique étant, dans l'espèce équine, l'analogue du bouton d'Orient chez l'homme.

Lorsqu'on colore les frottis par la méthode de Ziehl, ou celle de Gram, il ne reste coloré du karyosome que des granulations chromatiques. C'est ce qu'a obtenu Gasperini, qui les a interprétées comme des mérozoïtes ou des microgamètes.

#### ESSAIS DE CULTURE DU PARASITE.

Afin de nous rendre compte de la spécificité des cultures obtenues par Fermi et Arusch, nous avonsensemencé des pommes de terre avec du pus, prélevé aseptiquement dans des boutons non ouverts, et après cautérisation de la peau préalablement rasée. Le pus ainsi recueilli est aseptique au point de vue bactérien. Il est très compact et offre la consistance du fromage de Brie qui a coulé, on ne peut ni le diluer dans des liquides, ni l'étaler en surface mince, force est donc de l'ensemencer en masse. Dans ces conditions, le matérielensemencé se liquéfie au bout de quelques jours, les leucocytes parasités se rompent, mettant en liberté un très grand nombre de leucocytozoaires et il semble en effet, à première vue, qu'il y a eu prolifération, d'autant plus que l'on trouve fréquemment des parasites, encore accolés, tels qu'ils étaient dans l'intérieur des cellules blanches et qui paraissent se reproduire par bourgeonnement. Dans aucun cas nous n'avons observé la formation de colonies nouvelles.

Le même pus,ensemencé sur milieu de Novy Mac-Neal, nous a permis de faire les mêmes constatations. Dans ce dernier milieu nous n'avons pas réussi à reproduire des formes flagellées ainsi que Ch. Nicolle (1) les a obtenues avec le parasite du bouton d'Orient.

La présence ou l'absence d'un micronucleus semble, jusqu'à

(1) CH. NICOLLE, Culture du parasite du bouton d'Orient, *C. R. Acad. Sciences*, t. CXL, 13 avril 1908, p. 842.

présent, coïncider avec la possibilité ou l'impossibilité du passage d'une forme à l'autre, et créer ainsi 2 espèces de leucocytozoaires distinctes quoique possédant des habitudes de parasitisme absolument semblables.

*Essais d'inoculation, mode probable de contagion par les insectes.*

Les essais d'inoculation au cheval, que nous avons pratiqués par ensemencement de pus sur des scarifications, ne nous ont donné, comme à un grand nombre d'auteurs, que des résultats négatifs. Tixier, Chauvrat, Delamotte et Peuch disent bien avoir réussi à inoculer la maladie, mais la longue durée de l'incubation (un mois et plus) permet de se demander s'il n'est pas intervenu un autre facteur de contamination.

Etant données la nature du parasite et la répartition géographique de la lymphangite épizootique, nous pensons que l'on doit rechercher la cause de la contagion ailleurs que dans la souillure des plaies par des litières ou dans un simple transport par un harnachement contaminé. La maladie semble actuellement localisée au littoral méditerranéen et à certaines colonies, tous pays où règne le paludisme et où l'on rencontre des moustiques. Elle se retrouvait autrefois en France, le long des canaux et des rivières, sur les chevaux employés au halage, d'où le nom qui lui avait été donné de *Farcin de rivière*. Il n'est donc pas impossible que l'affection soit transmise par des insectes piqueurs et peut-être même par des moustiques, et cela d'autant moins que l'un de nous a toujours observé que la contagion se manifestait surtout au Sénégal pendant la saison chaude et humide dite hivernage.

ESSAIS DE TRAITEMENT.

La lymphangite épizootique est une infection leucocytaire générale, comme semblaient déjà l'indiquer des localisations sur les muqueuses et les organes splanchniques : cas signalés par Caprini (1), pseudo-farcin de l'œil, par Nocard (2), pseudo-farcin de la pituitaire, du poumon et des autres viscères et par Mazzanti (3), pseudo-farcin du gros intestin, le traitement local

(1) UGO CAPRINI, La cura del Farcino, *Broch. Napoli*, 1885, p. 14.

(2) NOCARD et LECLAINCHE, *loc. cit.*, p. 634.

(3) MAZZANTI, *loc. cit.*



ne peut donc prétendre hâter beaucoup la guérison et il y a lieu de rechercher une médication générale active, comme on l'a fait pour les maladies à protozoaires, telles que le paludisme ou les trypanosomiasés.

L'atoxyl à doses de 5 grammes amène une amélioration presque immédiate, les boutons sèchent en quelques jours et un petit nombre d'animaux guérissent effectivement, mais chez le plus grand nombre, après un rétablissement en apparence presque complet, de nouvelles cordes lymphatiques apparaissent avec de nouveaux abcès et le médicament devient rapidement inactif.

Il reste cependant de cet essai une indication précieuse au point de vue de la voie à suivre dans les recherches thérapeutiques, concernant la lymphangite épizootique, affection qui rend les animaux inutilisables pendant de longs mois, et qui jusqu'à présent a résisté à toutes les médications.

# Traitement des trypanosomiasés chez les chevaux

par l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl.

---

PAR MM.

A. THIROUX

Médecin-major de 1<sup>re</sup> classe des troupes coloniales, directeur du laboratoire de bactériologie de Saint-Louis.

ET

L. TEPPAZ

Vétérinaire en second, hors cadres, détaché au service de l'agriculture du Sénégal.

(Travail du laboratoire de bactériologie de Saint-Louis.)

---

## TRAITEMENT DE LA BALÉRI PAR L'ORPIMENT.

Nous avons rapporté récemment (1) les résultats obtenus, dans le traitement par l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl, chez des chevaux atteints de Souma et de Trypanosomiasé des chevaux de Gambie. Nous avons pu suivre jusqu'à aujourd'hui ces animaux, qui ont terminé leur traitement depuis le 22 juin et le 13 juillet 1908, c'est-à-dire depuis 6 mois : aucun d'eux n'a présenté de rechute. Ils sont toujours en parfait état de santé. Nous n'avons pu, dès cette époque, indiquer les résultats obtenus par l'orpiment dans le traitement de la Baléri, les expériences sur la thérapeutique de cette trypanosomiasé étant en cours. Le traitement appliqué a été le traitement par l'orpiment seul, tel que nous l'avons indiqué dans notre précédent mémoire, mais grâce à l'amélioration rapide obtenue par la médication, nous avons pu à un moment donné l'écourter ainsi qu'il suit : 1<sup>er</sup> jour, 20 grammes d'orpiment ; 4<sup>e</sup>, 25 grammes ; 7<sup>e</sup>, 30 grammes ; 10<sup>e</sup>, 30 grammes ; 13<sup>e</sup>, 30 grammes ; 16<sup>e</sup>, 30 grammes ; 19<sup>e</sup>, 30 grammes ; 8 jours de repos et second traitement comprenant seulement 5 ingestions à 3 jours d'intervalle au lieu de 7. Il est très possible que, dans les trypanosomiasés que nous avons reconnus curables par l'orpiment seul, le traitement puisse même être réduit aux 7 premières ingestions dans le plus grand nombre des cas.

Le cheval traité pour Baléri, qui fait l'objet de ce mémoire, a été cette fois inoculé expérimentalement sous la peau de l'encolure avec *Trypanosoma Pecaudi* (virus que nous avons recueilli à

(1) THIROUX et TEPPAZ, Traitement des trypanosomiasés chez les chevaux par l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl, C. R. Acad. des Sciences, 12 octobre 1908, Ann. de l'Inst. Pasteur, 25 mars 1909.

Nianing au cours d'une mission relative aux trypanosomiasés(1). Il faisait partie d'un lot de 3 chevaux, chez lesquels nous avons essayé d'empêcher l'infection expérimentale en leur faisant ingérer tous les 7 jours 15 grammes d'orpiment, tandis qu'ils étaient inoculés tous les 3 jours avec du sang virulent. Les 3 chevaux ainsi mis en expérience se sont infectés après une incubation normale de 15 jours. Cette nouvelle expérience démontre, après celles que l'un de nous a faites avec M. le professeur Laveran (2), que pas plus que l'acide arsénieux, le sulfure d'arsenic, excellent médicament curatif, ne peut être employé comme préventif dans les trypanosomiasés.

### OBSERVATION.

Cheval n°-1 de la race autochtone, dite M' Baiarde, acheté sur le marché de Saint-Louis, 12 ans environ. Etat général satisfaisant, quoique l'animal soit maigre. — 4 septembre. 0. trypan. A. G. 0. 15 grammes d'orpiment en électuaire. — 5. Inoculation, sous la peau de l'encolure, de sang riche en *Trypanosoma Pecaui*. — 8. 2<sup>e</sup> inoculation de *Tr. Pecaui*. — 9. 0 trypan. A. G. 0. — 11. 0 trypan. A. G. très légère, 15 grammes orpiment. 3<sup>e</sup> inoculation de *Pecaui*. — 12. 0 trypan. A. G. légère. — 13. 4<sup>e</sup> inoculation de *Tr. Pecaui*. 0 trypan. A. G. notable. — 16. 0 trypan. A. G. notable. 5<sup>e</sup> inoculation de *Tr. Pecaui*. — 18. 0 trypan. A. G. notable. 15 grammes orpiment. — 19. TRYPAN. NON RARES. — 20. 0 trypan. A. G. forte, léger engorgement des boulets, pas d'œdème des testicules. *Début du traitement*. 20 grammes orpiment. — 22. 0 trypan. A. G. notable. — 23. 0 trypan. A. G. notable; amaigrissement et mauvais état général. 25 grammes orpiment. — 26. 0 trypan. A. G. notable, l'état général est moins mauvais, 30 grammes orpiment. — 29. 0 trypan. A. G. notable, état général satisfaisant. — 2 octobre. 0 trypan. A. G. légère 30 grammes orpiment. — 5. 0 trypan. A. G. 0. 30 grammes orpiment. — 9. 0 trypan. A. G. 0. — 30 grammes orpiment. 8 jours de repos. — 12. 0 trypan. A. G. 0. — 15. 0 trypan. A. G. 0. — 19. 0 trypan. A. G. 0. 2<sup>e</sup> *traitement* 20 grammes orpiment. — 22. 0 trypan. A. G. 0. 20 grammes orpiment. — 26. 0 trypan. A. G. 0. 30 grammes orpiment. — 27, 28, 29, 0 trypan. A. G. 0. — 31. 0 trypan. A. G. 0, 30 grammes orpiment. — 3 novembre. 0 trypan. A. G. 0.30 grammes orpiment.

Depuis le 3 novembre, c'est-à-dire depuis près de 3 mois, l'agglutination globulaire a été constamment nulle et on n'a jamais observé de trypanosomés dans le sang circulant. L'état général est resté très satisfaisant et l'animal, mieux nourri au laboratoire que par son ancien propriétaire, a engraisé.

(1) THIROUX, WURTZ et TEPPAZ, Maladie du sommeil et trypanosomiasés animales sur la petite côte et dans la région des Niayes, au Sénégal, *Ann. de l'Institut Pasteur*, juillet 1908.

(2) LAVERAN et THIROUX, L'emploi de l'acide arsénieux est-il préventif des trypanosomiasés? *C. R. Acad. des sciences*, 30 sept. 1907.p. 561,

Il est actuellement tout à fait en forme. Nous le considérons comme guéri.

Les trois trypanosomiasés que nous avons reconnues curables par l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl : Trypanosomiasé des chevaux de Gambie, Souma et Baléri, occupent une zone considérable. Leur territoire s'étend du 15<sup>e</sup> degré de latitude nord et presque des rives du Sénégal et du Haut-Niger jusqu'au Congo et à l'est jusqu'au Tchad, peut-être même certaines d'entre elles vont-elles bien au delà puisque, d'après Laveran (1), Balfour semblerait avoir observé la Baléri au Soudan Anglo-Egyptien (2) et que G. Memmo, F. Martoglio et L. Anani (3) ont signalé l'existence chez les animaux domestiques en Erythrée, d'une trypanosomiasé à laquelle les cobayes, les lapins et les singes sont réfractaires et que Laveran pense pouvoir être la Souma. Ce sont encore les trois trypanosomiasés, Souma, Baléri et Trypanosomiasé des chevaux de Gambie que Bouet (4) retrouve à la Côte d'Ivoire et au Dahomey. G. Martin (5) semble les avoir observées dans la Haute-Guinée. Le même auteur avec Lebœuf et Roubaud (6) les signale au Congo français à côté de *Tr. congolense*, Kérandel (7) les observe dans la Haute-Sangha, le Logone, l'Ouhame et le Chari-Tchad, Pécaud et Cazalbou (8) étudient sur les bords du Haut-Niger les trypanosomes auxquels Laveran donne leur nom et que Bouffard (9) retrouve ensuite. Nous-même retrouvons les trois mêmes trypanosomiasés au Sénégal (10), à la Petite Côte et jusque dans les Niayes et si Dutton et Todd (11) n'ont signalé en Gambie que *Tr. dimorphon* chez les chevaux, c'est qu'ils ont confondu les 3 para-

(1) LAVERAN, Sur les trypanosomiasés du Haut-Niger. *C. R. Acad. des Sciences*, 4 février 1907, p. 243, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1907, p. 338.

(2) A. BALFOUR, Second Report of the Wellcome, *Risearch. Laboratories*, 1906.

(3) *Annali d'Igiene Sperimentale*, 1905, t. XV, p. 25.

(4) BOUET, Les trypanosomiasés animales de la Basse-Côte d'Ivoire. *Ann. de l'Institut Pasteur*, juin 1907. Les trypanosomiasés animales de la Haute-Côte d'Ivoire. *Ann. de l'Institut Pasteur*, décembre 1907. Notes sur les trypanosomiasés du Dahomey. *C. R. de la Soc. de Path. exotique*, juin 1908.

(5) G. MARTIN, Les trypanosomiasés de la Guinée française. Paris, 1906.

(6) MARTIN, LEBŒUF et ROUBAUD, Les trypanosomiasés animales du Congo français. *C. R. de la Soc. de Path. exotique*, juin 1908.

(7) KÉRANDEL, Trypanosomiasés des mammifères au Congo français, *C. R. de la Soc. de Path. exotique*, juin 1908.

(8) L. CAZALBOU, La Souma, *Rev. générale de méd. vétér.*, 1<sup>er</sup> et 15 sept. 1906. — PÉCAUD, La Soumaya, Trypanosomiasé du Moyen Niger. *Soc. biol.*, 13 janvier 1906.

(9) BOUFFARD, La Souma, Trypanosomiasés du Soudan français. *Ann. Institut Pasteur*, 25 juillet 1907. — La Baléri, Trypanosomiasé animale des territoires de la Bouche du Niger, *Ann. Institut Pasteur*, 25 janvier 1908.

(10) THIROUX, WURTZ et TEPPAZ, *loc. cit.*

(11) DUTTON et TODD, First report of the trypanosomiasés expedition to Senegambia Liverpool School of trop. medicine. *Mém.* XI, 1903.



sites en une seule espèce, depuis démembrée par Laveran.

On peut donc affirmer qu'avec l'orpiment on possède actuellement un moyen sûr et pratique de guérir, chez les équidés, les trypanosomiasés *qui sont transmises* par les glossines, les plus répandues dans tout l'Ouest Africain, et peut-être devrait-on dire dans toute l'Afrique intertropicale.

Il serait intéressant d'étudier encore parmi les trypanosomiasés transmis par les tsé-tsé, celles qui sont dues à *Tr. Brucei* ou à *Tr. congolense*. La première n'a été signalée dans l'ouest africain qu'au Togo (virus Martini), mais son importance est au contraire prépondérante dans l'Afrique du Sud. La seconde n'a guère été observée en dehors du Congo, mais nous pensons, d'après ce que nous avons vu chez un cheval venant de la boucle du Niger, et chez lequel nous avons trouvé un trypanosome qui semblait différer très légèrement par sa mobilité de *Tr. dimorphon*, ainsi que d'après des renseignements oraux que nous a donnés M. Pécaud, qui prétend qu'il existe 2 espèces de *dimorphon* dans le Haut-Niger, que *Tr. congolense* remonte peut-être jusqu'au Niger.

Les trypanosomiasés à Tabanides dont le Surra ou M'Bori est le type, et qui sévissent au nord du Sénégal et du Haut-Niger (au nord du 15° degré de lat.), semblent plus difficiles à guérir et les études que nous poursuivons au sujet de leur traitement nous donnent à penser qu'il faudra, pour elles, modifier un peu notre thérapeutique.

Cette constatation paraît d'autant plus étrange que les premières expériences qui ont été faites sur l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl par M. le professeur Laveran (1) et l'un de nous ont presque toutes porté sur des cobayes infectés de Surra. Nous indiquerons dans un prochain mémoire quelles sont, à notre avis, les causes qui, en la circonstance, donnent raison à Ehrlich (2), lorsqu'il prétend que le problème du meilleur médicament se pose, non seulement pour chaque trypanosome, mais encore avec un même trypanosome pour chaque espèce animale, et qui font que la médication, telle que nous l'avons adoptée pour les autres trypanosomiasés, semble insuffisante dans le Surra du cheval.

(1) LAVERAN et THIROUX, Recherches sur le traitement des trypanosomiasés, *Ann. de l'Institut Pasteur*, février 1908.

(2) EHRLICH, Chemotherapeutische Trypanosomen Studien, *Berl. klin. Woch.*, 4, 11, 18, 25 mars 1907.

# Contribution à l'étude de la transmission héréditaire de l'immunité antirabique.

PAR LE DR P. REMLINGER

La transmission héréditaire de l'immunité contre la rage n'a été jusqu'ici l'objet que d'un petit nombre de travaux. *Högyes* (1) inocule dans la chambre antérieure, avec du virus de rue, quatre petits chiens âgés de trois mois et nés de parents immunisés. Trois d'entre eux succombent à la maladie après des incubations de 13, 28, 42 jours. Le quatrième est également atteint de la rage au 42<sup>e</sup> jour, mais la maladie se termine par guérison. Il est inoculé une deuxième fois et résiste complètement.

*Tizzoni et Centanni* (2) ont recherché quel était le rôle du père dans la transmission de l'immunité contre la rage. Ils arrivent à cette conclusion qu'il peut à lui tout seul, par l'intermédiaire du sperme, conférer une immunité très solide et très durable. Diverses critiques toutefois ont été adressées à ces expériences. La réceptivité de la mère à la rage n'a pas été recherchée et a été supposée entière à *priori*. Les petits ont été éprouvés à deux reprises, si bien que l'immunité constatée la deuxième fois pouvait fort bien être une immunité active conférée par la première inoculation.

*Babès et Talasescu* (3) inoculent dans l'œil avec du virus de rue quarante-cinq jours après leur naissance trois petits chiens dont le père et la mère étaient, comme dans l'expérience d'*Högyes*, solidement immunisés l'un et l'autre contre la rage. Tous trois tombèrent malades le seizième jour et succombèrent treize à quatorze jours plus tard. Une aussi longue durée de la maladie chez d'aussi jeunes animaux est de nature, comme le remarque *Konradi* (4), à faire supposer chez eux un certain degré d'immuni-

(1) HÖGYES, L'immunité contre la rage est-elle héréditaire? *Annales Pasteur*, 1889, p. 434.

(2) TIZZONI ET CENTANNI, Vererbung der Immunität gegen Rabies von dem Vater auf das Kind, *Centr. f. Bakt. I. ab. Orig.* Bd XIII, p. 81.

(3) BABÈS ET TALASESCU, Etudes sur la rage, L'immunité héréditaire, *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1894, p. 444.

(4) KONRADI, Ist die erworbene Immunität vererbbar? *Centr. f. Bakter. I. Abt. Originale*, Bd XLVI, H. 1<sup>er</sup> et 2, 21 janvier et 3 février 1908.

sation. A vrai dire, nous ne sommes pas pleinement convaincu de la justesse de cette observation. Bien que nous ayions noté chez le chien et chez le lapin quelques faits qui plaident en sa faveur, nous avons toujours été frappé de ce fait que la rage qui éclate chez les personnes ayant subi le traitement pasteurien ne se présente nullement sous une forme atténuée. Elle ne diffère ni par l'acuité des symptômes, ni par la rapidité de l'évolution de la maladie qu'on observe chez les mordus non inoculés. M. *Roubinov* (1) a même tenté d'exploiter le fait contre le traitement antirabique. Inversement nous avons observé des prolongations de la période morbide dans des conditions où toute immunité paraissait pouvoir être exclue. Quoi qu'il en soit de ce point particulier, les expériences de *Konradi* sur la transmission de l'immunité antirabique sont particulièrement intéressantes.

Une chienne est immunisée au cours de la gestation à l'aide du virus fixe et par la méthode d'Hogyes. Elle met au monde cinq petits qui, inoculés sévèrement (virus fixe dans les muscles des gouttières vertébrales ou sous la dure-mère) de 9 à 22 semaines après leur naissance, résistent tous à l'exclusion d'un seul. L'immunité persistait après une année (inoculation intramusculaire de virus de rue). Particularité curieuse, des chiens qui avaient été vaccinés en même temps que la mère furent éprouvés avec les petits et contractèrent la rage. La mère elle-même avait une immunité moins solide que sa progéniture. Eprouvée en même temps que celle-ci, elle contracta une rage qui, il est vrai, se termina par guérison. Ces faits paraissent à *Konradi* passibles de l'explication suivante. Bien qu'effectuée par voie placentaire, l'immunisation des petits chiens n'en était pas moins une immunisation active, les anticorps ayant été formés dans leur organisme à eux et non dans celui de leur mère. Or, on peut supposer la production des anticorps plus énergique dans un organisme jeune que dans un organisme adulte.

Une deuxième expérience a trait à des animaux immunisés avant la conception. *Konradi* éprouve, de 7 à 27 semaines après leur naissance, six petits chiens nés d'un père immunisé depuis trois ans et d'une mère immunisée depuis cinq mois, mais dont l'immunisation n'avait pas été renforcée au cours de la gestation. Trois animaux inoculés dans les muscles avec du virus de rue et

(1) *ROUBINOV, Rousski, Vratch.*, 24 juillet 1904.

un quatrième inoculé semblablement sous la dure-mère échappent à la maladie. Deux petits chiens (inoculation intramusculaire de virus de rue) contractent la rage. La transmission dans ces conditions de l'immunité antirabique est donc possible mais elle n'est pas fatale.

Dans une dernière expérience, nous voyons qu'aucun des trois petits d'un père ayant une immunité acquise et d'une mère ayant une immunité héréditaire ne présente d'immunité antirabique. Inoculés dans les muscles avec du virus de rue de 30 à 45 jours après leur naissance, ils contractent tous la rage dans les délais classiques. Même si le père a une immunité active, l'immunité antirabique ne saurait donc s'étendre à plus d'une génération.

Des faits qui précèdent, nous désirons rapprocher quelques observations personnelles. Presque toutes nos expériences ont été faites chez le lapin et avec du virus fixe.

#### 1<sup>o</sup> RÔLE DU PÈRE.

*Expérience I.* — Un lapin mâle reçoit sous la peau, du 3 au 13 février 1905, 240 centimètres cubes d'un mélange neutre de virus rabique et de sérum antirabique. Il est trépané le 27 février avec du virus fixe et échappe à la rage. Le 12 mars, il est accouplé à une femelle neuve qui met au monde deux petits le 11 avril. Ceux-ci sont inoculés dans les muscles de la nuque à l'âge de 4 mois, en même temps que deux témoins. Tous ces animaux sont morts de la rage du 16<sup>e</sup> au 20<sup>e</sup> jour. Cette expérience est passible d'une objection. Le père fut trépané une deuxième fois et avec une grande sévérité le 17 mars. Il mourut de rage le 11<sup>e</sup> jour et on peut supposer que son immunité était déjà en voie de décroissance lorsqu'il s'accoupla le 12. Cette cause d'erreur ne se retrouve pas dans le cas suivant.

*Expérience II.* — Un lapin mâle reçoit dans le rectum, du 10 novembre au 30 décembre 1906, de grandes quantités de virus rabique fixe. Le 5 janvier 1907, il est inoculé dans la chambre antérieure et demeure indemne. Il est accouplé au mois de février à une femelle neuve, qui met au monde trois petits le 15 mars. Ces trois lapins reçoivent, à l'âge de 4 mois, dans les muscles de la nuque, 2 centimètres cubes d'une émulsion de virus fixe à 1/50 et contractent tous la rage dans les délais classiques; à ce



moment, l'immunité du père à l'égard de l'inoculation intraoculaire de virus fixe persistait entière.

De ces deux expériences, nous croyons pouvoir conclure que le père est incapable de jouer un rôle dans la transmission de l'immunité antirabique. Ce résultat contraste avec celui de l'expérience, — très sujette à critiques, comme nous l'avons vu — de *Tizzoni* et *Centanni*. Il concorde par contre avec les expériences de *Högyes*, de *Babès* et *Talasescu*, de *Konradi* où nous voyons un mâle incapable de transmettre l'immunité à sa descendance, alors même qu'il est accouplé à une femelle jouissant elle-même d'une immunité acquise (*Högyes*, *Babès*) ou héréditaire (*Konradi*, Exp. III. A un point de vue plus général, le rôle du père dans la transmission de l'immunité héréditaire, considéré comme démontré par *Tizzoni* à la suite de ses expériences sur la rage, a été, comme on sait, fort critiqué. Admis par *Charrin* et *Gley* (B. Pyocyanique), il a été contesté par *Ehrlich*, *Wernecke*, *Vaillard* et par nous-même (tétanos, choléra, diphtérie, charbon, septicémie typhique expérimentale) (1). Toutefois l'expérience de *Tizzoni* : père immunisé, mère réceptive, n'avait pas encore été répétée avec le virus rabique lui-même. Les faits qui précèdent comblent jusqu'à un certain point cette lacune. Ils ont malheureusement trait au lapin, tandis que l'expérience de *Tizzoni* a porté sur le chien. *Konradi* (2) annonce la publication prochaine de recherches nouvelles (père seul immunisé) portant sur cet animal.

## 2<sup>o</sup> RÔLE DE LA MÈRE.

A) *Immunisation avant la conception ou transmission de l'immunité par voie ovulaire.*

*Expérience III.* — Une lapine reçoit sous la peau, du 21 mars au 6 juin 1903, 500 cent. cubes de virus rabique filtré à travers Berkefeld V. Le 12 juin, elle est trépanée avec du virus fixe. Alors que deux témoins succombent dans les délais classiques, elle ne présente aucun symptôme pathologique. Elle est accouplée alors à un mâle jouissant — quelque invraisemblable que la chose paraisse — d'une immunité naturelle à l'égard de l'inoculation intracérébrale de virus fixe (3). Au mois d'août, elle donne le jour à quatre

(1) *METCHNIKOFF*, L'immunité dans les maladies infectieuses, p. 467.

(2) *KONRADI*, *loc. cit.*

(3) Voyez *Annales de l'Institut Pasteur*, 1903, p. 843.

petits. D'eux d'entre eux sont éprouvés à l'âge de 3 mois par une injection de 2 cent. cubes d'une émulsion de virus fixe à 1/50 dans les muscles de la nuque. L'un succombe à la rage au 18<sup>e</sup> jour, 2 jours après le témoin. Le second résiste. Inoculé au 6<sup>e</sup> mois dans la chambre antérieure, il prend la rage en même temps que le témoin. Les deux autres petits ont été éprouvés semblablement dans les muscles de la nuque à l'âge de 6 mois; ils ont l'un et l'autre succombé à la rage avec des retards de 8 et 10 jours sur les témoins.

Au mois de février 1904, la lapine (éprouvée sans succès dans la chambre antérieure) est accouplée à un mâle réceptif. Les deux petits, inoculés au troisième mois dans les muscles de la nuque, ne manifestent aucune immunité.

*Expérience IV.* — Une lapine a reçu dans le rectum, du 10 novembre au 30 décembre 1906, la valeur de six cerveaux de lapins morts du virus fixe. Le 5 janvier 1907, elle est inoculée dans l'œil avec ce même virus et résiste. Le 20 février, elle est accouplée à un mâle réceptif et met au monde, le 23 mars, quatre petits. Ceux-ci sont éprouvés à l'âge de trois mois, dans les muscles de la nuque, de la même façon que les animaux précédents. L'un échappe à la maladie; les trois autres succombent mais avec des retards de 11, 13 et 21 jours sur les témoins.

*Expérience V.* — Une chienne de rue a été immunisée très solidement contre la rage, au cours des années 1905 et 1906, au moyen d'inoculations sous-cutanées de virus fixe. Elle a été éprouvée successivement dans la chambre antérieure et sous la dure mère. L'immunité, tout au moins à l'égard de l'inoculation intra-oculaire, persiste au mois d'octobre 1907 lorsqu'elle met bas (père inconnu) huit petits. Ceux-ci reçoivent tous sous la peau, à l'âge de 15 jours, 5 centimètres cubes d'une émulsion à 1/100 de virus fixe. Six meurent respectivement de rage aux 8<sup>e</sup>, 9<sup>e</sup>, 10<sup>e</sup>, 12<sup>e</sup>, 15<sup>e</sup>, 65<sup>e</sup> jours (diagnostics vérifiés chaque fois par les passages). Deux seulement demeurent indemnes. Huit petits chiens inoculés vers la même époque avec une dose de virus légèrement inférieure fournissent un résultat très sensiblement identique. Les très jeunes chiens présentent, comme on sait, une réceptivité plus grande à l'égard du virus rabique que les animaux adultes.

Ces expériences concordent dans une large mesure avec celles d'*Hogyes*, de *Babès* et de *Konradi*. Elles sont de nature à faire

admettre que la transmission de l'immunité antirabique par voie ovulaire est possible mais non fatale. Le plus souvent cette immunité est toute relative et se traduit simplement par le retard plus ou moins important (de 2 à 21 jours d'après nos observations) avec lequel, comparativement aux témoins, les animaux contractent la rage. Cette immunité est fugace et paraît s'éteindre vers le sixième mois qui suit la naissance. Son action se limite à la portée qui suit immédiatement la vaccination. La transmission de l'immunité héréditaire par la voie de l'ovule semble enfin — autant qu'on en peut juger par un aussi petit nombre d'observations — plus manifeste chez le lapin que chez le chien. Considérant le rôle du père dans la transmission de l'immunité comme tout à fait nul, nous n'attachons aucune importance au fait que, dans les expériences qui précèdent, le mâle était immunisé, (obs. I) réceptif (obs. I, 2<sup>e</sup> portée et obs. II) inconnu (obs. III).

B) *Immunisation pendant la gestation ou transmission de l'immunité par voie placentaire.*

*Expérience VI.* — Une lapine reçoit dans le rectum, du 10 novembre au 30 décembre 1906, la valeur de six cerveaux de lapins morts du virus fixe. Le 5 janvier 1907, elle est inoculée dans l'œil avec ce même virus et résiste. Nous nous apercevons alors qu'elle est pleine et poursuivons sa vaccination de façon intensive à la fois par voie rectale et par voie sous-cutanée. Le 28 janvier, elle met au monde quatre petits. Deux d'entre eux sont éprouvés dans les muscles de la nuque à l'âge de 2 mois et échappent à la rage. Les deux autres furent éprouvés semblablement au 5<sup>e</sup> mois. L'un d'eux prit la rage avec un retard de 10 jours sur le témoin; le deuxième résista; il mourut deux mois plus tard accidentellement. Les deux premiers animaux inoculés à nouveau et de façon très sévère à l'âge de six mois (virus fixe dans la chambre antérieure) contractèrent l'un et l'autre la rage dans les délais classiques.

*Expérience VII.* — Deux lapins neufs sont accouplés au commencement de mars 1908. La femelle est immunisée alors au moyen d'inoculations sous-cutanées de mélanges de virus rabique et de sérum antirabique d'abord, d'émulsions de virus fixe ensuite. Le 12 avril, elle met au monde trois petits qu'elle allaite elle-même. Quatre mois plus tard, elle est inoculée avec du virus fixe dans la chambre antérieure et résiste. Les petits sont éprou-

vés le même jour à l'aide d'une injection dans les muscles de la nuque de 2 centimètres cubes d'une émulsion centésimale de virus fixe. L'un d'eux contracte la rage au 25<sup>e</sup> jour, avec un retard de 2 jours sur le témoin; les deux autres résistent. Ils sont réinoculés sous la dure-mère en même temps que la lapine le 12 octobre (6<sup>e</sup> mois). Tous meurent de rage dans les délais classiques.

Il résulte de ces expériences que 7 animaux nés de mères dont l'immunisation commencée avant la conception avait été poursuivie pendant la gestation (obs. I), ou dont l'immunisation avait été entreprise seulement pendant la gestation (obs. II), ont donné deux survies 2 mois après la naissance, 2 survies au 4<sup>e</sup> mois, une survie au 5<sup>e</sup> mois, un retard de 2 jours au 4<sup>e</sup> et un retard de 10 jours au 5<sup>e</sup> mois. Par contre, les survivants inoculés au 6<sup>e</sup> mois avec une sévérité peut-être trop grande (inoculation sous dure-mérienne de virus fixe dans deux cas) ont succombé à la rage. Si on compare ces résultats à ceux du groupe d'expériences précédent, on voit qu'ils sont de nature à faire admettre que la transmission de l'immunité par voie placentaire l'emporte en fréquence et en solidité sur la transmission par la voie ovulaire. Il ne faut pas néanmoins s'exagérer son importance. Tout comme celle qui est transmise avant la conception, l'immunité conférée après la gestation ne doit pas être considérée comme fatale. Elle ne résiste pas à une épreuve sévère et paraît ne se maintenir que pendant un court espace de temps.

Une question intéressante se pose au sujet de l'immunité antirabique acquise pendant la gestation. Est-elle active ou passive? Les anticorps se forment-ils chez le fœtus ou, formés chez la mère, traversent-ils banalement le placenta? *Konradi*, ainsi que nous l'avons vu, admet la première de ces hypothèses et il explique à la fois par la formation des anticorps chez le fœtus et par leur production plus énergique dans un organisme jeune la solidité de l'immunité observée dans la majorité de ses expériences. Que la production des anticorps rabiques soit plus énergique dans un organisme jeune que dans un organisme adulte, nous sommes assez disposé à l'admettre. A différentes reprises, en effet, nous avons eu l'occasion d'injecter sous la peau, ou dans les muscles de jeunes animaux, de très faibles doses de virus rabique et avons été surpris de la solidité de la vaccination ainsi conférée. Mais, ayant observé chez le lapin une immunité héréditaire plus



rare et plus fugace que ne l'observa *Konradi* chez le chien, nous serions plutôt tenté de croire à l'existence, chez les jeunes animaux, d'une immunité passive banale. Sans doute, la durée de cette immunité dépasse la durée de l'immunité habituellement conférée par les sérums antitoxiques, mais on sait que *Behring* et *Ransom* ont constaté que les antitoxines persistaient plus longtemps dans le sang d'un animal lorsqu'elles y étaient introduites — comme c'est ici le cas — avec le sérum de la même espèce animale.

### C) *Transmission de l'immunité par l'allaitement.*

Il était intéressant de rechercher si, dans la transmission de l'immunité antirabique, l'allaitement jouait un rôle analogue à celui qui a été observé par *Ehrlich* chez les souris vaccinées contre l'abrine, la ricine ou le tétanos. Ces recherches sont malheureusement très délicates et se terminent presque toujours par des avortements ou par la mort prématurée des animaux en expérience. L'animal de choix est la souris, dont le tube digestif se comporte au point de vue de l'absorption des antitoxines (*Ehrlich*), des agglutinines (*Widal* et *Sicard*) du virus rabique (*Fermi*, *Remlinger*) de façon toute spéciale. Les difficultés sont ici au maximum et il semble bien difficile d'en triompher dans un laboratoire qui n'est pas spécialement agencé pour l'élevage des souris. Nous n'y avons jamais réussi pour notre part. Une seule fois, nous avons pu féconder simultanément une lapine normale, une lapine immunisée contre la rage; après la parturition substituer une portée à une autre; éprouver simultanément tous ces animaux et les observer ensuite pendant un laps de temps suffisamment long. Ainsi que pouvaient le faire prévoir les faits observés chez le lapin et le cobaye immunisés contre le tétanos (*Vaillard*) ou le bacille d'Eberth (*Remlinger*), cette expérience a donné, au point de vue de la transmission de l'immunité antirabique par l'allaitement, un résultat complètement négatif.

*Expérience VIII.* — Une lapine neuve met bas quatre petits le 10 juin et une lapine immunisée contre la rage deux petits le 25 juin 1908. L'immunisation avait été obtenue au moyen d'inoculations sous-cutanées de virus fixe. Commencée avant la conception, elle avait été poursuivie au cours de la gestation. Le

18 juin, le croisement des nourrices est effectué. Le surlendemain, deux des petits nés de la mère neuve et confiés à la lapine immunisée sont trouvés morts, après quoi l'allaitement se poursuit normalement. Chacune des deux femelles se trouve ainsi nourrir deux lapins. A l'âge de quatre mois, les quatre lapins sont éprouvés sévèrement par inoculation intramusculaire de quatre centimètres cubes d'une émulsion centésimale de virus fixe. Les deux lapins allaités par la femelle immunisée succombent les premiers, l'un 18, l'autre 20 jours après l'inoculation. Des deux autres animaux, l'un prend la rage au 24<sup>e</sup> jour et meurt le 26<sup>e</sup>. Le second survit. Inoculé deux mois plus tard dans la chambre antérieure avec un virus de rue d'intensité moyenne, il résiste également.

\* \* \*

A plusieurs reprises, nous avons cherché si le sang des jeunes lapins qui, nés de parents immunisés contre la rage, présentaient eux-mêmes un certain degré d'immunité, était doué de propriétés antirabiques. Les résultats ont toujours été négatifs. Le sérum de ces animaux était incapable de neutraliser même le dixième de son volume d'une émulsion centésimale de virus fixe. Dans un cas (obs. VI) le sérum de la mère neutralisait la moitié de son volume; dans un autre cas (obs. VII) son volume de la même émulsion centésimale. Ces expériences sont à rapprocher de celles de *Dzierzowski* (1) qui dose comparativement l'antitoxine diphtérique dans le sang de la jument et dans celui du fœtus ou du poulain. Il constate sa présence chez la mère, son absence chez le rejeton. Il n'en conclue pas de façon ferme que le placenta de la jument empêche le passage de l'antitoxine de la mère au fœtus mais que les méthodes dont on dispose pour apprécier l'immunité héréditaire par la quantité d'antitoxine sont insuffisantes. On peut avancer de même que les procédés de dosage du pouvoir rabicide du sérum sont, eux aussi, bien grossiers et que de l'absence de ces propriétés antirabiques on ne peut tirer d'argument décisif contre l'existence de l'immunité héréditaire. M. *Vaillard* a émis du reste, à propos du tétanos, l'opinion que cette immunité n'était pas exclusivement une question de sérum. Certaines cellules — des globules blancs en particulier — peuvent, en passant de

(1) DZIERZGOWSKI, Sur l'hérédité de l'immunité artificielle contre la diphtérie. Przegląd, lekarski, 1903, an. in. *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1904, p. 41.

la mère au fœtus, — contribuer dans une large mesure à son établissement. Cette hypothèse est d'autant plus plausible en matière de rage qu'il ne semble pas exister de rapport bien étroit entre les propriétés rabicides du sang et l'immunité antirabique. Certains animaux réfractaires à la rage — la tortue terrestre par exemple — ont un sérum complètement dépourvu de propriétés rabicides. Et on voit par contre succomber à la suite d'une inoculation sous dure-mérienne ou même intra-oculaire des lapins dont le sérum neutralise plusieurs fois son volume d'émulsion centésimale.

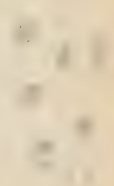
\*  
\* \*

Les expériences qui précèdent présentent certainement des lacunes bien difficiles à éviter dans un sujet aussi délicat. Nous croyons néanmoins pouvoir conclure que, chez le lapin tout au moins, le rôle du père dans la transmission de l'hérédité antirabique est tout à fait nul. Le rôle de la mère est réel, surtout lorsque l'immunisation est poursuivie pendant la gestation et de façon intensive. Il s'agit alors, selon toute vraisemblance, d'une immunité passive banale, les anticorps se forment chez la mère et non chez le fœtus. Même dans ces conditions, l'immunité est inconstante et peu solide. Elle ne résiste pas à une épreuve un peu sévère, ne se maintient pas au delà du sixième mois et ne s'étend qu'à la portée qui a suivi immédiatement la vaccination. L'immunité antirabique n'est pas transmissible au lapin par l'allaitement. On n'arrive pas enfin à mettre en évidence, dans le sang des animaux doués d'une immunité héréditaire, l'existence de substances antirabiques.

Bien que ces expériences ne soient pas forcément applicables au chien et aux animaux domestiques en général, on remarquera que la faible importance de l'immunité héréditaire qu'elles décèlent cadre bien avec ce qui s'observe dans la pratique des inoculations expérimentales. Les animaux réfractaires à la rage sont l'exception. Ceux-ci s'observent plus souvent chez les adultes (immunité acquise, sans doute à la suite de morsures) que chez les jeunes (immunité héréditaire). Le jeune chien paraît même plus sensible au virus rabique que l'adulte. Le jeune âge vient en quelque sorte compenser le léger degré de résistance qui, dans certains cas, pourrait avoir été héréditairement conféré.

Nous désirons insister en terminant sur l'erreur à laquelle expose l'appréciation *de la durée* de l'immunité héréditaire chez les animaux ayant résisté à une première épreuve (en général, inoculation intramusculaire de virus). Il est très difficile, au cours de la deuxième expérience, de faire la part de la résistance due à l'immunité héréditaire et à l'immunité active conférée par la première inoculation. L'hypothèse de l'énergique production des anticorps chez les organismes jeunes n'est pas pour diminuer l'importance de ce dernier facteur. L'expérimentateur se trouve placé entre deux écueils. Ou, il recourt à une deuxième épreuve trop bénigne et la durée de l'immunité héréditaire court le risque d'être indûment exagérée. Ou, conscient de ce danger, il croit l'éviter en employant une épreuve si sévère (inoculation sous dure-mérienne de virus fixe) que même une immunité active très forte ne saurait en triompher. Il semble donc que les doubles épreuves soient à éviter. Elles gagneraient à être remplacées par l'inoculation des différents animaux d'une même portée à des intervalles éloignés, et comparativement avec des témoins en nombre aussi grand que possible.

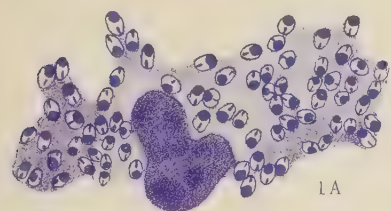




28

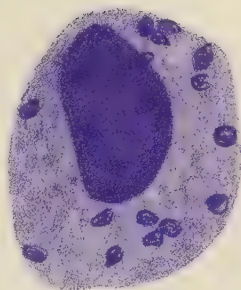






1A

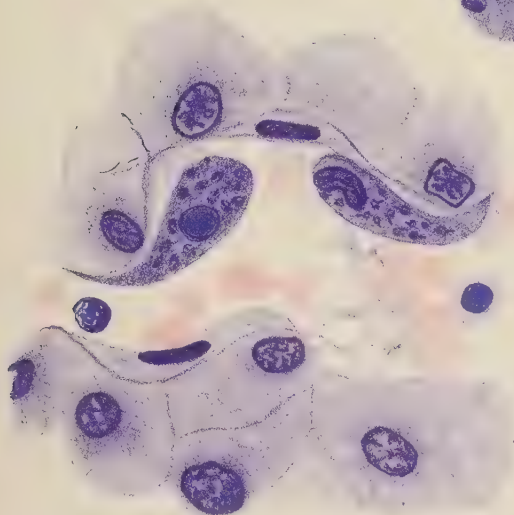
1A'



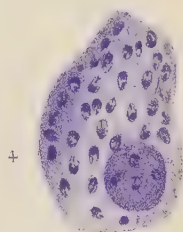
1B



1C

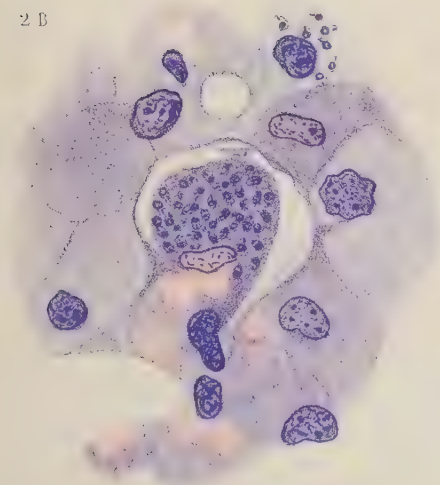


2A



4

2B



3

